



FACULDADE UNIÃO DE GOYAZES

CURSO DE BIOMEDICINA

**HEMOGLOBINA GLICADA E FRUTOSAMINA COMO BIOMARCADOR
GLICÊMICO EM IDOSOS**

Humberto Batista da Silva Luna

José Augusto do Nascimento Bueno

Orientador: Prof. Me. Wesley José Moreira Garcia

Trindade - GO

2018

FACULDADE UNIÃO DE GOYAZES

CURSO DE BIOMEDICINA

**HEMOGLOBINA GLICADA E FRUTOSAMINA COMO BIOMARCADOR
GLICÊMICO EM IDOSOS**

Humberto Batista da Silva Luna

José Augusto do Nascimento Bueno

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade União de
Goyazes como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Me. Wesley José Moreira Garcia

Trindade - GO

2018

Humberto Batista da Silva Luna

José Augusto do Nascimento Bueno

**HEMOGLOBINA GLICADA E FRUTOSAMINA COMO BIOMARCADOR
GLICÊMICO EM IDOSOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade União de
Goyazes como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina, aprovada pela seguinte
banca examinadora:

Prof. Me. Wesley José Moreira Garcia

Faculdade União de Goyazes

Prof. Me. Leonardo Izidorio Cardoso Filho

Faculdade União de Goyazes

Prof. Me. Érico Meirelles de Melo

Faculdade Alfredo Nasser

HEMOGLOBINA GLICADA E FRUTOSAMINA COMO BIOMARCADOR GLICÊMICO EM IDOSOS

Humberto Batista da Silva Luna¹

José Augusto do Nascimento Bueno¹

Wesley José Moreira Garcia²

RESUMO

Diabetes mellitus (DM) é uma doença caracterizada por apresentar um defeito na secreção da insulina. O DM pode ser classificada em tipo I (um), causada devido à incapacidade de secreção do hormônio insulina e tipo II (dois) que ocorre através da combinação entre resistência à ação da insulina e da resposta secretora compensatória inadequada deste hormônio. A hemoglobina glicada, também conhecida por HbA1c se refere a porção da hemoglobina que se liga à glicose presente na corrente sanguínea sendo este um marcador largamente utilizado na prática clínica como acompanhamento dos níveis de glicemia do paciente diabético. A frutossamina é formada através do mecanismo não enzimático que envolve a ligação da glicose sérica às proteínas séricas, em especial a albumina, para formar cetoaminas. Sua utilização ocorre, principalmente, nas circunstâncias em que o uso da HbA1c não é válido devido interferentes, como alterações no tempo de vida das hemácias. O emprego desses dois métodos em questão na medicina laboratorial se torna uma estratégia importante no controle glicêmico de pacientes. Este trabalho objetivou analisar a associação dos exames de hemoglobina glicada e frutossamina como marcador glicêmico em idosos residentes em um abrigo de Trindade - GO. Foi realizado um estudo de corte transversal o qual analisou níveis séricos de hemoglobina glicosilada, frutossamina e glicose na investigação do perfil glicêmico de pacientes idosos residentes no Lar Ana de Almeida. Participaram desse estudo 13 idosos com idade entre 70 e 89 anos de ambos os sexos. As dosagens de frutossamina tiveram uma variação entre 168 a 293 $\mu\text{mol/L}$, com valores de referência de 205 a 285 $\mu\text{mol/L}$. Quanto à hemoglobina glicada houveram variações entre 4,8% e 8,2% com valores de referência: normal < 5,7%, pré-diabetes 5,7% a 6,4% e diabetes $\geq$ 6,5%. Os resultados demonstraram uma correlação de Pearson positiva, entre hemoglobina glicada e frutossamina, porém em contrapartida a correlação entre frutossamina e glicemia estimada foi fraca. Foram evidenciados altos níveis glicêmicos entre os participantes mesmo a alimentação sendo realizada

somente no asilo. Esse fato pode estar associado à falta de atividade física, uma vez que nenhum dos idosos praticavam algum exercício, além da falta de informações exatas relacionadas à dieta. Nossos achados também mostraram que os idosos eram polimedicados. Estudos apontam que o uso de medicamentos pode interferir nos resultados clínicos levando a interpretações errôneas, não refletindo a condição real do paciente. Nossos resultados permitiram concluir que a hemoglobina glicada é um excelente marcador glicêmico e que a frutossamina é um marcador fraco por apresentar limitações ao diagnosticar níveis glicêmicos adquiridos nos primeiros dias, tendo assim a incapacidade de aferir níveis elevados a longo prazo. Levando em consideração a escassez de trabalhos relacionando alterações laboratoriais em pacientes idosos com o uso de medicamentos e dieta sugere-se estudos mais aprofundados para que maiores esclarecimentos sejam mostrados objetivando uma melhor compreensão dessas circunstâncias.

PALAVRAS-CHAVE: Hemoglobina Glicada; Frutossamina; Biomarcador Glicêmico.

GLYCATED HEMOGLOBIN AND FRUCTOSAMINE AS A GLYCEMIC BIOMARKER IN THE ELDERLY

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a syndrome characterized by a failure in insulin secretion. DM can be classified as type I (one), caused due to the inability to secrete the hormone insulin and type II (two) that occurs through the combination between resistance to action of insulin and the inadequate compensatory secretory response of this hormone. Glycated hemoglobin, also known as HbA1c, refers to the portion of hemoglobin that binds to glucose in the bloodstream and is a widely used marker in clinical practice for monitoring the glycemia levels of the diabetic patient. Fructosamine is formed through the non-enzymatic mechanism that involves the binding of serum glucose to serum proteins, especially albumin, to form ketoamines. It is mainly used in circumstances where the use of HbA1c is not valid because of interferences, such as changes in the red cell lifetime. The use of these two methods in laboratory medicine becomes an important strategy in the glycemic control of patients. This study aimed to analyze the association of glycated hemoglobin

and fructosamine exams as glycemic marker in elderly residents in a Trindade-GO shelter. This cross-sectional study analyzed serum levels of glycosylated hemoglobin, fructosamine and glucose in the investigation of the glycemic profile of elderly patients living in Lar Ana de Almeida. Thirteen elderly men and women aged between 70 and 89 years participated in this study. The dosages of fructosamine varied from 168 to 293 $\mu\text{mol} / \text{L}$, with reference values of 205 to 285 $\mu\text{mol} / \text{L}$. For glycated hemoglobin there were variations between 4.8% and 8.2% with reference values: normal <5.7%, pre-diabetes 5.7% to 6.4% and diabetes $\geq 6.5\%$. The results showed a positive Pearson correlation between glycated hemoglobin and fructosamine, but in contrast the correlation between fructosamine and estimated glycemia was weak. High glycemic levels were evidenced among the participants, even the feeding being performed only in the asylum. This fact may be associated to a lack of physical activity, since none of the elderly practiced any exercise, besides the lack of accurate information related to the diet. Our findings also showed that the elderly were polymedicated. Studies indicate that the use of medications may interfere with clinical outcomes leading to misinterpretations, not reflecting the actual condition of the patient. Our results allowed us to conclude that glycated hemoglobin is an excellent glycemic marker and that fructosamine is a weak marker because it presents limitations when diagnosing glycemic levels acquired in the first days, thus failing to measure high levels in the long term. Taking into account the shortage of papers relating laboratory abnormalities in elderly patients with the use of medications and diet, we suggest further studies to clarify the results in order to better understand these circumstances.

KEY WORDS: Glycated hemoglobin; Fructosamine; Glycemic Biomarker.

Acadêmicos do Curso de Biomedicina da Faculdade União de Goyazes

² Orientador: Prof. Me. da Faculdade União de Goyazes

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	08
2- JUSTIFICATIVA.....	11
3-OBJETIVOS.....	12
3.1 - Objetivo Geral.....	12
3.2 - Objetivos específicos.....	12
4 - METODOLOGIA.....	12
4.1 - Coleta	13
4.2 - Dosagens Bioquímicas	14
4.2.1 - Dosagem Sérica de Hemoglobina Glicada	14
4.2.2 - Dosagem Sérica de Frutosamina	16
5 - RESULTADO E DISCUSSÃO	19
6 - CONCLUSÃO.....	23
BIBLIOGRAFIA.....	24
Apêndice.....	26

1.INTRODUÇÃO

Diabetes mellitos (DM) faz parte de um grupo heterogêneo de doenças que estão relacionadas com o metabolismo, sendo caracterizada por apresentar um defeito na secreção da insulina (GUZATTI et al., 2017; LUCENA, 2007). Entre as suas complicações crônicas estão danos como a perda da visão, nefropatia evoluindo para insuficiência renal, neuropatia periférica com risco de úlceras nos pés e neuropatia autonômica, levando a sintomas gastrointestinais, geniturinários, cardiovasculares e disfunção sexual. Pacientes com diabetes possuem uma incidência aumentada de aterosclerose arterial periférica, cardiovascular e doença cérebro vascular (LADEIRA et al., 2013).

O diabetes mellitos pode ser classificado em dois tipos: tipo I (um), sendo insulín dependente, causada devido à incapacidade de secreção do hormônio insulina; e tipo II (dois) não insulín dependente. O tipo II corresponde ao mais comum, representando aproximadamente de 90-95% do número total de casos. Sua origem ocorre através da combinação entre resistência à ação da insulina e da resposta secretora compensatória inadequada deste hormônio (FUJIMOTO et al., 2016; GUZATTI et al., 2017; LUCENA, 2007).

Os pacientes portadores do diabetes mellitos tipo II, tem a capacidade de evoluírem ao longo do tempo, para pacientes portadores da diabetes mellitus tipo I (LUCENA, 2007). Isto ocorre devido à constante resistência à insulina que é responsável por gerar a hiperinsulinêmica, que consiste no aumento da concentração desse hormônio (insulina) no plasma. As células betas tornam-se incapazes de desfazerem a compensação da resistência à insulina, isso ocorre devido uma falência das células betas pancreáticas nos pacientes portadores de diabetes mellitus tipo II. Em seguida, há diminuição da secreção de insulina devido à progressiva redução da função das células beta (responsáveis pela produção da insulina), havendo hipossensibilidade destas células à glicose, fato este relacionado ao esgotamento funcional ocasionado pela hiperestimulação inicial ao avançar da idade do indivíduo acometido pela doença (NETTO et al., 2009).

Pacientes que apresentam níveis glicêmicos acima de 126 mg/dL em duas dosagens aferidas em momentos diferentes, em estado de jejum de oito horas, são classificados com diabéticos, já em pacientes não diabéticos o valor apresentado será abaixo de 100 mg/dL nessa condição. Pessoas portadoras de diabetes ainda podem apresentar valores iguais ou acima de 200 mg/dL em coletas aleatórias e superior a 200 mg/dL duas horas após a ingestão de 75 g de glicose. Em pacientes saudáveis esse valor é inferior a 140 ao se realizar o mesmo teste. Existe ainda os pré-diabéticos, que apresentam valores entre 100 e 125 mg/dL em jejum de oito horas ou valores entre 140 e 200 mg/dL em testes de tolerância à glicose (SANTOS MAZZAFERRO; LUNARDELLI, 2016).

A hemoglobina glicada é também conhecida por HbA1c foi identificada, inicialmente, como uma hemoglobina “anormal” em pacientes diabéticos na década de 1960 por (RAHBAR; BLUMENFELD; RANNEY, 1969). A HbA1c se refere a porção da hemoglobina que se liga à glicose presente na corrente sanguínea. Em indivíduos não diabéticos a hemácia tem tempo de vida médio de 117 dias para homens e 106 para mulheres, durante este período, o organismo vai incorporando glicose para realização de suas atividades. Desta maneira, é possível avaliar o nível médio da glicemia dos últimos dois a três meses do paciente, pois altas taxas glicêmicas durante este período resultarão em altos níveis nos valores da hemoglobina glicada (SANTOS MAZZAFERRO; LUNARDELLI, 2016).

Por este motivo esse marcador é largamente utilizado na prática clínica como acompanhamento dos níveis de glicemia do paciente diabético. Apesar de hemácias em condições normais apresentarem esse tempo médio de vida, a hemoglobina glicada é mais bem acompanhada laboratorialmente quando quantificada mensalmente, pois o valor médio da glicose do último mês contribui para, aproximadamente, metade dos valores de HbA1c. Os 50% restantes estão divididos entre os dias 31-90, correspondendo a 40%, e os últimos 10% entre os 91-120 dias. Em uma amostra de sangue haverá eritrócitos em diferentes tempos de vida, sendo a maior prevalência hemácias mais jovem e com diferentes níveis de exposição à hiperglicemia (SANTOS MAZZAFERRO; LUNARDELLI, 2016).

A frutossamina é formada através do mecanismo não enzimático que envolve a ligação da glicose sérica às proteínas séricas, em especial a albumina, para formar cetoaminas. Em outras palavras, é o produto da glicação de proteínas séricas. Possui tempo de vida médio entre 14 e 21 dias e reflete o nível médio de glicemia deste período. O aumento da frutossamina ocorre na permanência de níveis aumentados de glicose no sangue, indicando que o controle glicêmico foi inadequado no período supracitado (FUJIMOTO et al., 2016).

Sua utilização ocorre, principalmente, nas circunstâncias em que o uso da HbA1c não é válido devido interferentes como pacientes que apresentam qualquer fator que seja responsável pela alteração no tempo de vida das hemácias como, por exemplo: anemia, talassemias, diminuição dos valores de eritropoetina, nefropatia diabética, diabetes mellitos gestacional, e/ou indivíduos em tratamento por hemodiálise. A formação de tipos diferentes de hemoglobina se torna um interferente na correta interpretação dos valores de HbA1c. Em outras palavras, qualquer fator que seja responsável pela alteração do tempo de vida das hemácias ou que resulte em sua alteração estrutural, torna-se um interferente na interpretação dos valores de HbA1c (SANTOS MAZZAFERRO; LUNARDELLI, 2016).

A proteinúria ocorre em 15-40% em diabéticos tipo I com um pico de incidência após 15-20 anos de diabetes, já no tipo II a sua prevalência varia de 5 a 20%. Nesta etapa, na ausência de intervenção específica, ocorre perda progressiva da função renal, representada pela queda da filtração glomerular, um número significativo destes pacientes evolui para a fase de insuficiência renal terminal, com necessidade de tratamento dialítico, após 7-10 anos (ANGELO et al., 2010).

A principal causa de doença renal é a nefropatia diabética em pacientes que estão iniciando terapia de substituição renal e afeta aproximadamente 40% dos pacientes com diabetes tipo I e tipo II. Dentre os fatores de risco para desenvolvimento de nefropatia diabética encontram-se suscetibilidade hereditária, aumento da glicose sanguínea e pressão arterial elevada. Pode haver relação da doença renal no DM com fumo, dislipidemia, obesidade,

idade, sexo, e duração do diabetes. Pacientes com retinopatia diabética também apresentam maior risco para nefropatia (DA SILVA CORRÊA; RALPH, 2005).

Apesar de menos de 5% das mortes nos pacientes com diabetes tipo II serem atribuídas diretamente à doença renal, estudos mostram um índice duas vezes maior de morte em pacientes com macro albuminúria em relação aos que apresentavam concentração urinária de albumina normal. A maioria dos pacientes diabéticos quando desenvolve doença renal terminal ingressa em programas de hemodiálise (GUZATTI et al., 2017).

Mesmo a diálise peritoneal ambulatorial contínua sendo empregada como primeira escolha, análises recentes demonstram que a sobrevida destes pacientes é inferior quando comparada à hemodiálise. O transplante renal funcionante é a terapia que oferece maior sobrevida e melhor qualidade de vida aos pacientes diabéticos urêmicos. Apesar do progresso na área de terapia renal de substituição, a taxa de sobrevida em pacientes em estágio final de doença renal, em 5 anos, é muito menor do que a descrita nos diversos grupos da mesma faixa etária na população geral. A expectativa de vida em 5 anos em pacientes em estágio final da doença renal é, particularmente, baixa em diabéticos comparado aos não diabéticos, na ordem de 19 e 38% respectivamente (ANGELO et al., 2010).

2.JUSTIFICATIVA

A diabetes é uma doença crônica que traz várias sequelas aos indivíduos quando os mesmos não fazem o devido acompanhamento para a avaliação do progresso da doença.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) existem no Brasil 16 milhões de brasileiros que sofrem de diabetes. Este estudo também revela que a taxa de incidência cresceu 61,8%. E pesquisas recentes o Brasil ocupa o 4º lugar no ranking dos países com o maior número de casos. A Sociedade Brasileira de Diabetes afirma que no Brasil morre cerca de 72 milhões de pessoas (ASCOM SE/UNA-SUS, 2016).

A obesidade, o estresse e o sedentarismo também são fatores de risco que contribuem para o agravamento da doença, principalmente quando os mesmos não fazem o devido acompanhamento para a avaliação do progresso da doença.

Diante do exposto faz-se necessário a realização do presente estudo para o acompanhamento das condições de saúde desses idosos para a promoção de melhores cuidados e condições de vida.

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a associação entre os exames de hemoglobina glicada e frutossamina de um abrigo em trindade - Goiás.

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar se os idosos fazem uso de medicamentos contínuos que possam interferir nos resultados.
- Relacionar a dieta dos idosos com alterações nos exames laboratoriais.
- Verificar se a prática de atividades físicas e de lazer entre os idosos interfere nos achados laboratoriais

4.METODOLOGIA

Este trabalho abordou um estudo de corte transversal, o qual analisou níveis séricos de hemoglobina glicosilada, frutossamina e glicose na investigação do perfil diabético de pacientes idosos.

O estudo foi desenvolvido no laboratório de análises clínicas da Faculdade União de Goyazes, no segundo semestre de 2018. O público abordado foram todos os pacientes residentes no abrigo Nosso Lar Ana De Almeida Trindade-Goiás. O local em questão é uma instituição filantrópica

localizada à rua 16 de julho nº 1208 Setor Oeste Trindade -Goiás, a qual atende hoje vinte idosos, entre os quais alguns com deficiência de locomoção e outros portadores de pequenas enfermidades. A instituição foi escolhida por oferecer um ambiente propício ao desenvolvimento do estudo, permitindo identificar e acompanhar o tratamento recebido pelos idosos que ali habitam e relacionar a dieta oferecida na instituição ao perfil glicêmico dos mesmos.

Pacientes de ambos os sexos foram convidados e somente mediante o seu consentimento, que se deu após assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), fizeram parte da pesquisa ou mediante assinatura do Termo de Assentimento quando o mesmo não pudesse assinar e seu responsável tenha permitido a participação na pesquisa. A seleção dos participantes se deu a partir dos seguintes critérios:

- Critérios de Inclusão: pacientes com faixa etária de 60 anos ou mais, jejum no mínimo de 8 horas e assinou o TCLE ou o responsável tenha assinado o Termo de Assentimento.
- Critérios de exclusão: pacientes com insuficiência renal, com faixa etária menor que 60 anos, que não estavam de jejum mínimo de 8 horas, pacientes que não tinham assinado o termo de assentimento ou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou que ainda que tivessem assinado o TCLE, porém de última hora decidissem não participar do estudo.

Os dados foram tabulados e analisados utilizando o programa Microsoft Office Excel®, versão 2016, por meio de estatística simples e descritiva e busca por correlações entre variáveis por meio do Coeficiente de Pearson. Foi escolhido esse coeficiente pelo fato de se conseguir medir o grau da correlação linear entre duas variáveis quantitativas. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade União de Goyazes.

4.1 COLETA

A coleta foi supervisionada pelo biomédico responsável e desempenhada pelos pesquisadores. Foram coletados 10 mL de amostras de cada paciente em 2 tubos. A amostra destinada a dosar hemoglobina glicosilada foi colocada em um tubo com anticoagulante (EDTA).

Para aquisição da amostra foi recomendado coleta após jejum de 8 horas. Para realizar o procedimento o paciente foi informado da técnica que foi executada, em seguida o flebotomista realizou a assepsia das mãos com água, sabão ou solução alcoólica a 70% (álcool etílico, líquido ou gel), posteriormente, calçar luvas de procedimento e identificou o tubo de coleta com nome, data e hora. Posicionou o braço do paciente de forma correta, curvando-o para baixo, na altura do ombro, fez a antissepsia após apalpar o local da punção com álcool 70%. Logo após garrotear o braço do paciente não excedendo 1 minuto, efetivou a punção com o bisel da agulha direcionado para cima, aspirando lentamente o sangue para dentro da seringa. Logo após a punção, retirou o torniquete do braço do paciente e transferiu a amostra para os tubos devidamente identificados (SBPC, 2014).

4.2 DOSAGENS BIOQUÍMICAS

A Dosagem sérica de Frutosamina, Hemoglobina glicosilada foram executadas com kits da Laborclin reagentes, e para garantir precisão nos resultados das análises, foram utilizados controles comerciais Dialab. Ao final da pesquisa os resultados dos exames foram entregues aos idosos ou responsáveis.

4.2.1 DOSAGEM SÉRICA DE HEMOGLOBINA GLICADA

FINALIDADE DO TESTE

Teste imunoturbidimétrico para doseamento da Hemoglobina Glicada fração A1c (HbA1c) em amostras de sangue total.

PRINCÍPIO DO TESTE

Todas as hemoglobinas presentes na amostra se ligam à superfície das partículas de látex (Reagente 1). A adição de anticorpo monoclonal de camundongo anti-HbA1c humana (Reagente 2) promove a formação do complexo látex-HbA1c-anticorpo anti-HbA1c. Um segundo anticorpo presente

no Reagente 2 (anticorpo policlonal anti-IgG de camundongo) produz aglutinação deste complexo. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, é proporcional à quantidade de HbA1c presente na amostra. O valor de HbA1c é obtido através de curva de calibração.

Metodologia

Imunoturbidimetria.

REAGENTES

Reagente 1: Armazenar entre 2 – 8 °C. Contém partículas de poliestireno e azida sódica $\leq 0,05\%$.

Reagente 2: Armazenar entre 2 – 8 °C. Contém tampão 0,3% pH 6,0; anticorpo monoclonal de camundongo anti-HbA1c humana; anticorpo policlonal anti-IgG de camundongo e conservativo.

Reagente 3: Reagente hemolisante: Armazenar entre 2 – 8 °C. Pronto para uso. Contém azida sódica $\leq 0,05\%$.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

- Analisador (HPLC) de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Ponteiras descartáveis.
- Estantes.
- Cubetas.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

A- Hemolisado: O procedimento a seguir deverá ser realizado para as amostras, controles e calibradores, conforme o descrito a seguir:

1. Pipetar 1mL do reagente hemolisante (pronto para uso) em tubos (vidro ou plástico), para cada tipo de amostra (paciente, controle e calibradores).
2. Homogeneizar a amostra e pipetar 20mL no tubo respectivo.

3. Agitar bem.

4. Aguardar cinco minutos para a hemólise completa (ausência de turvação).

Nota: o hemolisado preparado pode ser armazenado por 10 dias a uma temperatura de 2 a 8°C.

B- Preparo dos Reagentes

1. O reagente R1 Látex é pronto para uso.

2. O reagente R2 consiste na mistura do reagente 2A + 2B. Este reagente deve ser preparado pela adição do reagente 2B ao volume do reagente 2A. Homogeneizar suavemente. Depois de preparado o reagente é estável por 30 dias se mantido à temperatura de 2 a 8°C.

C- Curva de Calibração

Utilizar os Calibradores HbA1c específicos e proceder de maneira idêntica ao estabelecido para as amostras de pacientes. O último ponto da curva (maior valor) é o ponto limite de determinação da reação.

Cálculos:

Definir a concentração das amostras através da interpolação dos valores obtidos na curva de calibração.

- Unidade de medida: % em HbA1c - Valores referenciais

Valores Referenciais	
Não diabéticos	< 5,7 %
Pré-diabéticos	5,7% - 6,4 %
Diabético	≥ 6,5 %

Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

4.2.2 DOSAGEM SÉRICA DE FRUTOSAMINA

FINALIDADE

Método para a determinação quantitativa de frutossamina em soro humano. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico in vitro.

PRINCÍPIO

A glicose se liga aos grupamentos amina das proteínas formando uma base de Schiff (aldimina), que após um rearranjo molecular, transforma-se em uma cetoamina estável denominada genericamente frutossamina.

Metodologia: Colorimétrica

REAGENTES

1. Reagente 1- Armazenar entre 2 – 8 °C. Contém tampão 83 mmol/L, pH 7,3; azul de nitrotetrazólio 967 µmol/L, uricase $\geq$ 5000U/L, azida sódica 14,6 mmol/L, surfactantes e estabilizadores.

2. Reagente 2- Armazenar entre 2 – 8 °C. Após o manuseio armazenar bem vedado. Contém tampão 625 mmol/L, pH 10,4 e azida sódica 14,6 mmol/L.

Preparo do Reagente de Trabalho: O Reagente de Trabalho contém tampão fosfato 50 mmol/L; tampão carbonato 250 mmol/L; azul de nitrotetrazólio 580 µmol/L, uricase $\geq$ 3000 U/L, detergentes e estabilizadores em pH 10,3.

O conjunto de um frasco de Reagente 1 e um frasco de Reagente 2 permite preparar o Reagente de Trabalho. Transferir o conteúdo de um frasco do Reagente 2 para um frasco do Reagente 1 e homogeneizar por inversão.

3.Calibrador: Concentração no rótulo do frasco - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém albumina bovina glicada, tampão 50 mmol/L, pH 7,4 e azida sódica 14,6 mmol/L.

Preparo do Calibrador: Dissolver o conteúdo do frasco de Calibrador (nº 3) com 2,0 mL de água destilada ou deionizada. Misturar por inversão. Esperar 30 minutos antes de usar.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

1- Analisador (HPLC) de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

2- Banho-maria mantido à temperatura constante (37 °C).

3- Pipetas para medir amostras e reagentes.

4- Cronômetro.

5- Ponteiras descartáveis.

6- Estantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Rotular 2 cubetas do fotômetro como “Teste” e “Calibrador” e proceder como a seguir:

	TESTE	CALIBRADOR
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL

Incubar a 37 °C durante 2 minutos.

Amostra	0,050 mL	-
Calibrador	-	0,050 mL

Misturar bem e incubar a 37 °C. Após exatamente 10 minutos (cronometrados) determinar as absorbâncias (A_1) do teste e do calibrador em 530 nm (510 – 550), acertando o zero com água destilada ou deionizada. Continuar a incubação a 37 °C por mais exatamente 5 minutos (cronometrados) e determinar as absorbâncias (A_2) do teste e do calibrador em 530 nm (510 – 550), acertando o zero com água destilada.

CÁLCULOS

Calcular as diferenças de absorbâncias para o teste e o calibrador: $\Delta A = A_2 - A_1$.

$$\text{Frutosamina } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\Delta A \text{ do teste}}{\Delta A \text{ do Calibrador}} \times \text{Concentração do calibrador}$$

Devido à grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, o método do fator pode ser empregado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Calibrador}}{\Delta A \text{ do Calibrador}}$$

Frutosamina ($\mu\text{mol/L}$) = ΔA do teste x Fator

5.Resultados e Discussão

Participaram desta pesquisa 17 idosos, residentes do abrigo Ana de Almeida em Trindade – Goiás, com idades entre 70 e 89, sendo composto por 11 participantes do sexo masculino e 6 do sexo feminino, dos quais 2 não foi possível fazer a coleta, 1 estava ausente e 1 recusou fazer a pesquisa, dos 17 idosos residentes do abrigo, 13 foram avaliados os níveis de frutosamina e hemoglobina glicada (HbA1c). Os valores para a frutosamina e hemoglobina glicada (HbA1c) foram obtidos por método de cromatografia líquida – (HPLC). Os resultados encontrados estão apresentando na tabela 1.

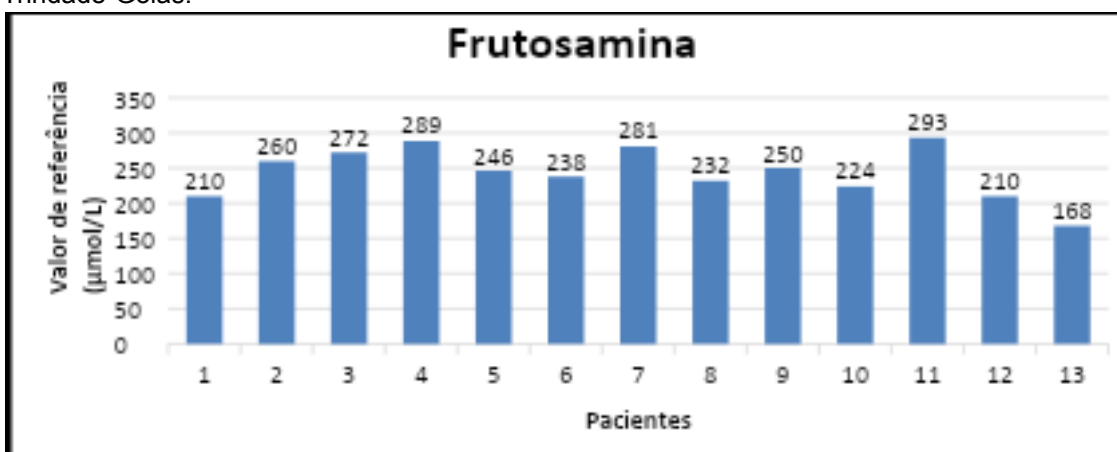
Tabela 1. Valores médios, desvio padrão e intervalos mínimo e máximo das concentrações sanguíneas de hemoglobina glicada (HbA1c), frutosamina e glicemia estimada dos idosos.

Parâmetros	Homens		Mulheres		Média geral
Frutosamina ($\mu\text{mol/L}$)	250,57 $\pm$ 30,49	210-289	236,50 $\pm$ 43,18	168-293	244,08 $\pm$ 35,98
Glicemia estimada média	109,57 $\pm$ 11,70	91-126	126,67 $\pm$ 32,45	100-189	117,46 $\pm$ 24,20
HbA1c (%)	5,44 $\pm$ 0,40	4,8-6,0	6,03 $\pm$ 1,13	5,1-8,2	5,71 $\pm$ 0,84

Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Entre os idosos as dosagens de frutosamina tiveram uma variação entre 168 e 293 $\mu\text{mol/L}$ assim como pode ser visualizado na figura 1, sendo 168 uma dosagem muito baixa e 293 uma dosagem alta comparando-as com os valores de referência de 205 a 285 $\mu\text{mol/L}$.

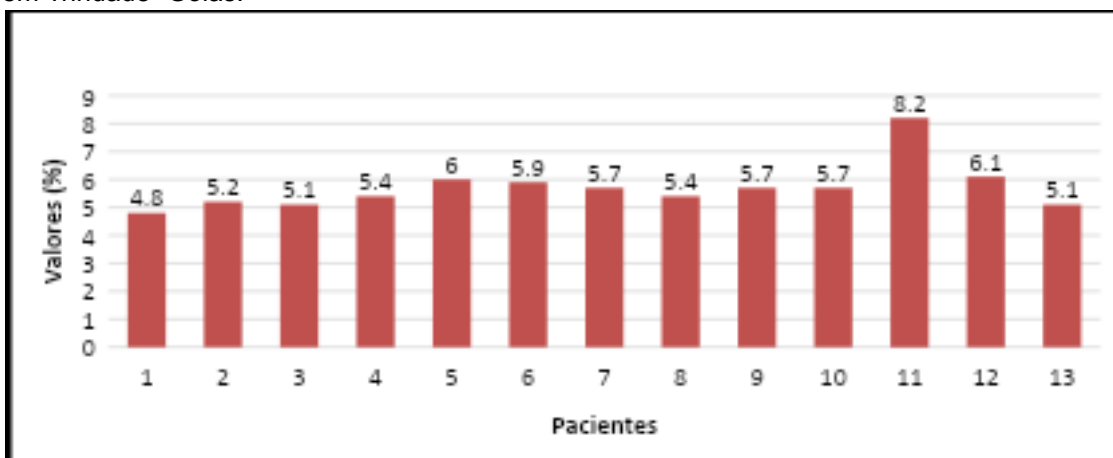
Figura 1. Resultados das dosagens de frutosamina dos idosos que residem no abrigo em Trindade-Goiás.



Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Quanto as dosagens de hemoglobina glicada apresentadas na figura 2, houveram variações entre 4,8% e 8,2%. Os valores de referência para hemoglobina glicada são: normal <5,7%, pré-diabetes 5,7% a 6,4% e diabetes $\geq 6,5\%$. Não foram encontrados estudos nos quais a frutossamina tenha sido dosada em pacientes idosos, sendo encontrados estudos com outras populações (gestantes, renal crônico por exemplo). Um estudo realizado por FUJIMOTO et al., (2016) o qual foi realizado em gestantes obteve valores entre 117 e 433 $\mu\text{mol/L}$, por apresentar um grupo de pessoas diferente do grupo apresentado por este estudo, os valores não poderão ser levados em considerações. Já a hemoglobina glicada por ser um marcador mais utilizado é possível encontrar trabalhos com os quais os resultados achados podem ser comparados. Em um estudo realizado por MARTINS et al. (2013) os níveis de hemoglobina glicada tiveram variação entre 4,6% e 9,4%, resultados esses semelhantes com os do presente estudo.

Figura 2. Resultados das dosagens de hemoglobina glicada dos idosos que residem no abrigo em Trindade- Goiás.



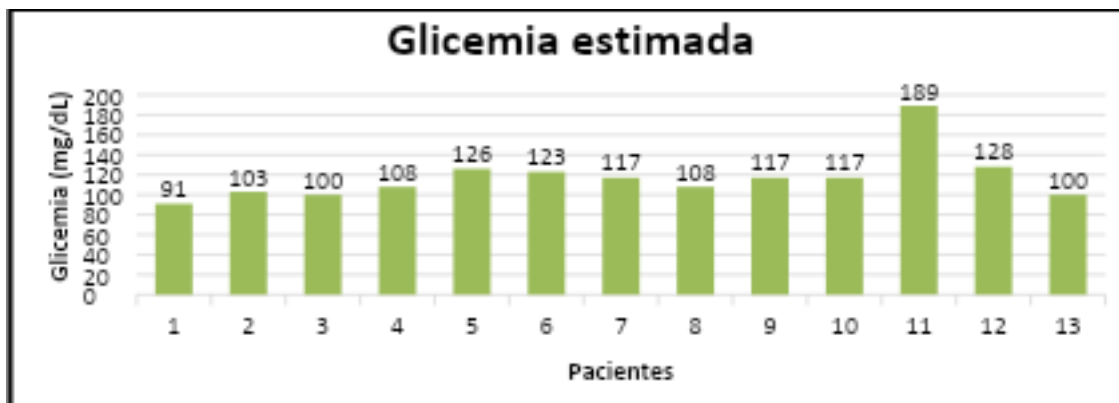
Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Fujimoto et al. (2016) afirmaram que a hemoglobina glicada é um marcador de longo prazo, pois consegue diagnosticar os níveis de açúcar na corrente sanguínea nos últimos 3 meses, destacando que a mesma é um dos métodos mais utilizado por possuir um monitoramento glicêmico de alto grau. Este estudo mostra que a hemoglobina é um marcador eficiente e que consegue diagnosticar com precisão a presença de diabetes. Dos 13 idosos (100%) que participaram da pesquisa apenas 1 dele (5,9%) apresentou níveis elevados quanto a hemoglobina glicada assim apresentados na figura 2.

Segundo FEITOSA e ANDRADE (2014) a frutossamina é marcador auxiliar para a avaliação do controle glicêmico em portadores de diabetes usada apenas quando a hemoglobina glicada é limitada. Para SUMITA et al. (2018) a frutossamina é um marcador glicêmico de curto prazo é que só consegue dosar dados referentes a 2° e 3° semana. Os resultados encontrados pelo presente estudo demonstram que a frutossamina é um marcador glicêmico fraco, comparando-o com os valores da hemoglobina glicada é possível observar que ela não consegue verificar com precisão os níveis de açúcar na corrente sanguínea.

Para melhor compreensão dos resultados de HbA1c foi calculado a glicose média estimada (mg/dL) através da fórmula $(28,7 \times A1c (\%) - 46,7)$ (SUMITA et al., 2018), na qual observou-se que a concentração de açúcar na corrente sanguínea dos idosos variavam entre 91 e 189 (mg/dL), como pode ser visto na figura 3.

Figura 3. Dosagem de glicemia estimada média dos idosos que residem no abrigo em Trindade- Goiás.



Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Ao ser usada em conjunto com a hemoglobina glicada, a glicemia estimada demonstra que os valores da hemoglobina glicada são verdadeiros e que podem ser confiáveis. Um estudo realizado por FONTELA et al. (2014), no qual também foi utilizado a glicemia estimada média como exame confirmatório, mostrou valores compreendidos entre 94 e 140mg/dL, apresentando uma média entre $115,56 \pm 47,76$ mg/dL. Os resultados

encontrados em nosso estudo concordam com os do estudo citado, como pode ser observado na tabela 1.

As médias das dosagens de HbA1c, frutossamina e glicemia estimada são apresentados na Tabela 1. Um estudo realizado por WILLIAMS et al. (2015) mostrou que a HbA1c foi o parâmetro que melhor representou os níveis glicêmicos dos pacientes pesquisados, ou seja, a HbA1c foi o analito que teve melhor correlação com os valores médios de glicose em relação a frutossamina. Os achados a confirmam como o melhor marcador glicêmico.

Tabela 1: Média dos resultados das dosagens de hemoglobina glicada (HbA1c), frutossamina e glicemia estimada dos idosos que participaram da pesquisa.

	HbA1c (%)	Frutossamina (μmol/l)	Glicemia estimada média
Média	5,715	244,08	117,46
Mínimo	4,8	168	91
Máximo	8,2	293	189
Mediana	5,700	246,00	117,00

Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Neste estudo houve correlação positiva entre hemoglobina glicada e glicemia estimada. O coeficiente de correlação de Pearson é usado para medir o grau da correlação linear entre duas variáveis quantitativas. Apresentam valores entre -1,0 e 1,0 pode se dizer que o coeficiente de Pearson reflete a intensidade de uma relação linear entre dois conjuntos de dados (SCHULTZ e SCHULTZ, 1992). Correlação mais forte foi observada entre a glicose estimada e a hemoglobina glicada, já a correlação entre hemoglobina glicada e frutossamina foi fraca. Estes resultados podem ser vistos na Tabela 2.

Tabela 2. Coeficiente de correlação entre hemoglobina glicada, frutossamina e glicemia estimada dos idosos (teste de correlação de Pearson).

Parâmetro de correlação	Glicemia estimada (mg/dL)	Frutossamina (μmol/L)	HbA1c (%)
Glicemia estimada (mg/dL)	1	0,41	0,99
Frutossamina (μmol/L)	0,41	1	0,41
HB HbA1c (%)	0,99	0,41	1

Fonte: Elaborado pelos autores (2018)

Tais resultados apontam que a utilização destes marcadores para diagnóstico e monitoramento com Diabetes Mellitus tem relevância na prática clínica. Em pacientes idosos, a meta da HbA1c deve ser individualizada. Nos idosos em boas condições clínicas, um valor de HbA1c entre 7% e 7,5% é aceito ser alcançado com segurança. São considerados favoráveis níveis de HbA1c (8-9%) para adultos idosos com saúde precária e expectativa de vida reduzida (SUMITA et al., 2018).

Embora todos os idosos façam as suas 6 refeições diárias somente no abrigo, foram evidenciados altos níveis glicêmicos entre os mesmos. Em estudo realizado por MATTOS et al. (2010) tais dados podem estar associados à falta de atividade física, uma vez que nenhum dos idosos praticava algum exercício, além da falta de informações exatas relacionadas à dieta dos idosos.

Neste trabalho pôde se verificar que os idosos fazem o uso de medicamentos variados, sendo a maioria neurolépticos, antidepressivos e anti-hipertensivos. Estudos realizados por FERREIRA et al. (2009) e OLIVEIRA (2016) apontam que o uso de medicamentos podem interferir nos resultados levando a interpretações errôneas, não refletindo a condição real do paciente.

6.CONCLUSÃO

Os resultados permitiram concluir que a hemoglobina glicada é um excelente marcador glicêmico e que a frutossamina é um marcador fraco por apresentar limitações ao diagnosticar níveis glicêmicos adquiridos nos primeiros dias, tendo assim a incapacidade de aferir níveis elevados a longo prazo.

A dosagem da glicose sanguínea, apesar de ser utilizada tanto como critério diagnóstico como de acompanhamento de pacientes com DM, não é considerada um parâmetro eficiente para a avaliação do controle da glicemia a longo prazo. É nesse sentido que as dosagens da HbA1c exercem um papel fundamental na monitorização do controle glicêmico em pacientes diabéticos.

Embora o ensaio de indicação da frutossamina venha a ser completamente automatizado, acessível e mais rápido do que o ensaio da hemoglobina glicada, a sua utilização seria recomendada em situações nas quais houvessem a impossibilidade do uso da HbA1c seja por interferências ou alterações biológicas. Além disso, ainda não há uma plena concordância a respeito da aplicação clínica da frutossamina, sendo necessários estudos mais específicos sobre variações em sua concentração nos diversos grupos populacionais. A escassez de estudos específicos que relacionam a interferência de exames laboratoriais com a dieta e exercícios físicos na população idosa representou uma limitação ao nosso trabalho. Estudos adicionais devem ser realizados para uma melhor compreensão a respeito do tema.

É compreendido que os fármacos podem provocar alterações em resultados laboratoriais ainda que as boas práticas em análises clínicas sejam aplicadas. As boas práticas visam identificar, reduzir ou eliminar eventuais erros interferentes no diagnóstico laboratorial. Levando em consideração tal evento sugere-se estudos mais aprofundados com a população idosa para que maiores esclarecimentos sejam mostrados objetivando uma melhor compreensão dessas circunstâncias.

REFERÊNCIAS

ANGELO, B. Z. et al. Fatores preditores de mortalidade em pacientes diabéticos em terapia de substituição renal em Tubarão-SC . Predictors factors of mortality in diabetic patients under renal replacement therapy in Tubarão - SC . **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 39, p. 23–28, 2010.

ASCOM SE/UNA-SUS. **No Dia Mundial da Saúde 2016, OMS lança seu primeiro relatório global sobre Diabetes - Notícia - UNA-SUS**. Disponível em:

<<https://www.unasus.gov.br/noticia/no-dia-mundial-da-saude-2016-oms-lanca-seu-primeiro-relatorio-global-sobre-diabetes>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

DA SILVA CORRÊA, Z. M.; RALPH, E. **Aspectos patológicos da retinopatia diabética** **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abo/v68n3/24752.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2018

FEITOSA, A. C. R.; ANDRADE, F. S. Avaliação da frutossamina como parâmetro de controle glicêmico na gestante diabética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 7, p. 724–730, 2014.

FERREIRA, B. C. et al. **ESTUDO DOS MEDICAMENTOS UTILIZADOS PELOS PACIENTES ATENDIDOS EM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS E SUAS INTERFERÊNCIAS EM TESTES LABORATORIAIS: UMA REVISÃO DA LITERATURA** Profile of medicines used for outpatients assisted at clinical analysis laboratory an. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/REF/article/viewFile/5859/4559>>. Acesso em: 8 dez. 2018.

FONTELA, P. C. et al. Estimated glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes mellitus. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 60, n. 6, p. 531–537, dez. 2014.

FUJIMOTO, Y. et al. Correlação das dosagens de frutossamina e de hemoglobina glicosilada com o perfil glicêmico em gestantes com diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 38, n. 1, p. 21–26, 2016.

GUZATTI, P. R. et al. FATORES ASSOCIADOS AO CONTROLE GLICÊMICO EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 46, n. 2, p. 26–38, 2017.

LADEIRA, R. T. et al. Diabetes subdiagnosticado e necrose miocárdica: preditores de hiperglicemia no infarto do miocárdio. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 5, p. 404–411, 2013.

LUCENA, J. B. D. S. Diabetes Mellitus Tipo 1 E Tipo 2. **CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDA**, p. 1–74,

2007.

MARTINS, R. A. et al. **Hemoglobina Glicada e Factores de Risco Associados nos Idosos* Glycated Hemoglobin and Associated Risk Factors in Older Adults** *Revista Portuguesa de Diabetes*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.cardiab.com/content/11/1/13>>. Acesso em: 8 dez. 2018.

MATTOS, M. A. DE et al. Consumo Alimentar, Pressão Arterial e Controle Metabólico em Idosos Diabéticos Hipertensos. **Rev Bras Cardiol.**, v. 23, n. 3, p. 162–170, 2010.

NETTO, A. P. et al. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **J Bras Patol Med Lab**, v. 45, n. 1, p. 31–48, 2009.

OLIVEIRA, W. B. DE. **Possíveis interferências de medicamentos em resultados de exames em um laboratório de análises clínicas**. [s.l: s.n.].

RAHBAR, S.; BLUMENFELD, O.; RANNEY, H. M. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 36, n. 5, p. 838–843, 22 ago. 1969.

SANTOS MAZZAFERRO, G.; LUNARDELLI. Frutosamina como principal parâmetro glicêmico do paciente diabético em hemodiálise. **Ciência & Saúde**, v. 9, n. 2, p. 119–126, 2016.

SUMITA, N. M. et al. Posicionamento Oficial SBD , DO CONTROLE GLICÊMICO E PARA O DIAGNÓSTICO DO DIABETES: ASPECTOS. **Posicionamento Oficial SBD , DO CONTROLE GLICÊMICO E PARA O DIAGNÓSTICO DO DIABETES : ASPECTOS**, p. 1–36, 2018.

WILLIAMS, M. E. et al. The Glycemic Indices in Dialysis Evaluation (GIDE) study: Comparative measures of glycemic control in diabetic dialysis patients. **Hemodialysis International**, v. 19, n. 4, p. 562–571, 1 out. 2015.

SBPC/ML. **Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina**

Laboratorial. Editora Manole. 1. ed. São Paulo, 2014.

SCHULTZ, Duane P.; SCHULTZ, Sydney Ellen. **História da psicologia moderna.** 16. ed. São Paulo: Cultrix, 1992. 439 p.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

OFÍCIO

Trindade, ____ de ____ de 2018

Ofício nº _____ / 2018

Responsável pela empresa: Nosso Lar Ana de Almeida

Prezado Senhor,

Vimos por meio deste solicitar a permissão a para realização de uma pesquisa intitulada Hemoglobina Glicada e Frutosamina em idosos como biomarcador glicêmico em idosos, esta pesquisa será realizada pelos alunos José Augusto Bueno do Nascimento Bueno, Humberto Batista Silva de Luna devidamente matriculados nesta instituição. Para a realização deste trabalho será apresentando o projeto inicialmente a Comissão de ética da Faculdade União de Goyazes e só a partir do momento em que o mesmo for aprovado é que daremos início a pesquisa. Certos do atendimento de nossa solicitação, antecipadamente agradecemos a atenção e aguardamos retorno.

Atenciosamente

.....

(assinatura e carimbo do coordenador de curso)

.....

Aceite da pessoa responsável

R. 16 de Julho, 1208-1298 - St. Oeste, Trindade - GO, 75380-000