

# Efeito do sexo e da gestação sobre os níveis séricos de frutossamina de indivíduos normais

LILACS E SABI  
ID: 7  
MFN: 7  
DATA 17/08/95

JOÍZA L. CAMARGO\*  
CLAUDIA PINHO\*\*  
LUCIO FILLMANN\*\*  
SANDRA P. SILVEIRO\*\*\*  
GLEDISON J. GASTALDO\*\*\*\*  
JORGE L. GROSS\*\*\*\*\*

## SINOPSE

A frutossamina é um índice do controle metabólico no diabetes mellito, refletindo as variações da glicemia nas últimas 2-3 semanas. Representa um conjunto de proteínas glicosadas, cuja fração principal é a albumina. Com o objetivo de estabelecer os valores normais da frutossamina em homens, mulheres e gestantes, os níveis séricos de frutossamina foram medidos em 42 indivíduos normais (homens, n=21, idades 24-81 anos; mulheres, n=21, idades 22-71 anos) e 36 gestantes (idades 18-38 anos, idade gestacional 17-37 semanas). A frutossamina foi medida pelo método colorimétrico em um analisador automático COBAS MIRA-ROCHE. Os valores de frutossamina (média  $\pm$  desvio padrão) observados em homens ( $2,99 \pm 0,32$  mmol/l) foram maiores do que nas mulheres ( $2,70 \pm 0,26$  mmol/l). Os valores normais nas gestantes foram menores ( $2,40 \pm 0,22$  mmol/l) do que nas mulheres não-grávidas e a correção da frutossamina de acordo com os níveis de albumina sérica não modificaram os resultados. Os dados apresentados indicam que devem ser considerados o sexo e a presença ou não de gravidez para se definir os limites normais dos valores de frutossamina sérica.

UNITERMOS: Frutossamina, Proteínas glicosadas, Controle glicêmico, Diabetes mellito, Valores de referência.

## ABSTRACT

*Serum fructosamine is an index of metabolic control in diabetes mellitus, reflecting the glucose variations during the last 2-3 weeks. It represents a group of glycosated proteins, in which the main fraction is albumin. The aim of this study was to determine the normal values in men, women and pregnant. Serum fructosamine was measured in 42 healthy subjects (men n=21, aged 24-81 years; women n=21, aged 22-71 years) and 36 normal pregnant (aged 18-38 years; gestational age 17-37 weeks). The fructosamine was determined by colorimetric method in an auto-analyser COBAS MIRA-ROCHE. The normal values (mean  $\pm$  standard deviation) observed in men ( $2,99 \pm 0,32$  mmol/l) was higher than women ( $2,70 \pm 0,26$  mmol/l). The normal values in pregnant ( $2,40 \pm 0,22$  mmol/l) were lower than non-pregnant women and the values were not dependent on serum albumin concentration. This data indicated the sex and pregnancy should be taken in account in order to establish the normal range of serum fructosamine.*

KEY WORDS: Fructosamine, Glycosated proteins, Glycemic control, Diabetes mellitus, Normal values.

\* Bioquímica da Unidade de Bioquímica — HCPA

\*\* Médicos-Residentes do Serviço de Medicina — HCPA

\*\*\* Mestre pelo Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica

\*\*\*\* Bioquímico Chefe da Unidade de Bioquímica — HCPA

\*\*\*\*\* Professor-Titular do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da UFRGS e Coordenador do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA.

Trabalho realizado no Serviço de Patologia Clínica e Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

## INTRODUÇÃO

A glicosação não-enzimática de proteínas é encontrada sob condições fisiológicas no corpo humano e foi primeiramente detectada na hemoglobina (1,2,3). Nesta reação, o grupo amino terminal de proteínas reage com a glicose formando uma aldimina lábil de Schiff que, subsequentemente, sofre o rearranjo de Amadori para formar uma cetoamina estável (4,5). Esta reação é irreversível e depende fundamentalmente da concentração de glicose. A duração do produto glicosado relaciona-se diretamente com a meia-vida da proteína.

A medida direta da glicose sanguínea é um meio de monitorizar o controle metabólico, mas a concentração de glicose isolada reflete apenas aquele momento e torna-se insuficiente para definir adequadamente a homeostasia glicêmica. Devido a isso, as proteínas glicosadas adquiriram importância na avaliação do controle glicêmico, pois elas podem refletir a média da concentração de glicose em um determinado espaço de tempo (6,9).

Em 1982, Jonhson e Baker descreveram um método colorimétrico, baseado na redução do Azul de Nitrotetrazólico (NBT), para medir proteínas séricas glicosadas, as quais denominaram FRUTOSSAMINA (10). Logo a seguir, a medida da frutossamina passou a ser considerada como mais um parâmetro para monitorizar a terapia do diabetes mellito, sendo usada para avaliar os efeitos das mudanças terapêuticas a curto prazo (2-3 semanas) (11,13).

A hemoglobina glicosada tem sido utilizada como uma medida muito útil de controle metabólico, especialmente dos pacientes portadores de diabetes mellito tipo I. Avalia, retrospectivamente, a homeostase glicêmica das últimas 4-6 semanas. No entanto, a medida da hemoglobina glicosada é demorada, dispendiosa e sujeita a interferências que podem modificar apreciavelmente os resultados.

Ao contrário da hemoglobina glicosada, a determinação de frutossamina pode ser submetida à auto-



matização, fornecendo resultados mais rápidos, confiáveis e de baixo custo (14-16). A frutossamina poderia ser muito útil na avaliação do controle metabólico do diabetes na gestação (12,13,17), pois nesta situação é necessário avaliar freqüentemente a eficácia das medidas terapêuticas empregadas. Adicionalmente, o teste pode ser realizado em amostras de soro congeladas, possibilitando o armazenamento do material (10).

Com o objetivo de fornecer subsídios para a interpretação dos resultados de frutossamina, determinaram-se os seus valores em indivíduos normais e gestantes.

## INDIVÍDUOS E MÉTODOS

Foram incluídos neste estudo dois grupos de indivíduos normais:

**GRUPO N** — composto de 42 indivíduos normais, 21 mulheres e 21 homens com idades de 24 a 81 anos ( $\bar{x} \pm DP = 43 \pm 14$  anos) e de 22 a 71 anos ( $\bar{x} \pm DP = 39 \pm 14$  anos), respectivamente. Todos foram submetidos ao teste de tolerância oral à glicose, com ingestão de 75 g de glicose e coleta de sangue venoso 2 horas após. De acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde consideraram-se como normais os indivíduos com valores séricos de glicose 2 horas após sobrecarga oral menores que 140 mg/dl (18).

**GRUPO G** — foram estudadas 36 gestantes atendidas no ambulatório de Gineco-Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com idades de 18 a 38 anos ( $\bar{x} \pm DP = 25 \pm 7$  anos) e entre 17ª e 37ª semana ( $\bar{x} \pm DP = 28 \pm 5$  semanas) de gestação. Todas foram submetidas a rastreamento para diabetes mélico, que consistiu na medida da glicemia 1 hora após a ingestão de 50 g de glicose. Foi considerado normal o valor de glicose inferior a 135 mg/dl (19). Também foram dosados a albumina e os triglicerídios séricos em amostra de sangue colhida pela manhã após 12 horas de jejum, para verificar a existência ou não de correlação com os valores de frutossamina.

**MÉTODO PARA A MEDIDA DA FRUTOSAMINA:** O princípio do método para determinação de frutossamina é baseado no potencial redutor das cetoaminas (frutossamina) em meio alcalino. Todas as proteínas glicosadas séricas reagem formando enaminol, o qual reduz o Azul de Nitrotetrazóico (NBT) levando à formação do composto corado formazan (Figura 1). A coloração do formazan correlaciona-se quase linearmente com os níveis de frutossamina (10,11). A determinação de frutossamina foi realizada com "kit" comercial LABTEST, constituído de Azul de Nitrotetrazóico (0,25 mmol/l) em tampão carbonato (0,1 mmol/l) pH 10,35. As análises foram realizadas em analisador automático COBAS MIRA-ROCHE a 37°C. Foi utilizado como calibrador o CALIBRADOR DE

FRUTOSAMINA ROCHE e como controle diário um soro bovino cujo valor de frutossamina havia sido previamente determinado.

A frutossamina corrigida pela albumina nas gestantes foi calculada através da fórmula (20):

$$\text{Frutossamina corrigida (mmol/L)} = \frac{\text{Frutossamina medida (mmol/L)}}{0,03 (4,0 - \text{Albumina}) (\text{mg/dl})}$$

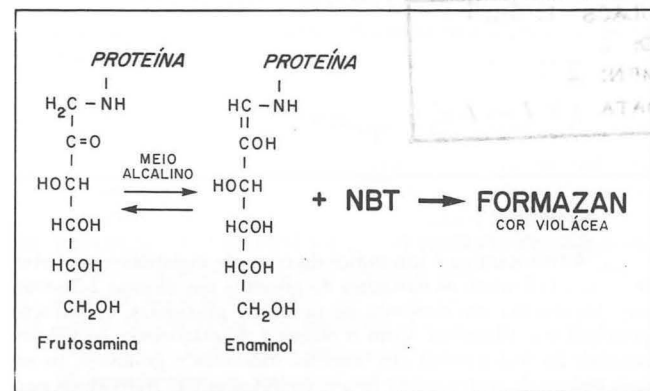


Figura 1 — Método para medida da frutossamina.

Para o cálculo de coeficiente de variação (CV) do método da frutossamina, foi utilizado o soro bovino com valor conhecido de frutossamina, em duplicata, para a determinação do CV interensaio. Para calcular o CV intra-ensaio, o soro bovino foi determinado quinze vezes em um só dia de análises no analisador automático. A fórmula aplicada para o cálculo foi (21):

$$CV = \frac{\text{DESVIO PADRÃO}}{\text{MÉDIA}} \times 100$$

**OUTROS MÉTODOS:** As determinações de glicose, triglicerídios e colesterol foram feitas em um aparelho CENTRIFICHEM 400-ROCHE através de "kits" comerciais. As dosagens de albumina sérica foram realizadas pelo método do VERDE DE BROMO CRESOL (AMES) em um analisador automático COBAS MIRA ROCHE.

**ANÁLISE ESTATÍSTICA:** As diferenças entre as médias de dois grupos foram analisadas através do teste t de Student para amostras independentes. Também foi empregado o coeficiente de Spearman para avaliar a existência de correlação da frutossamina com idade, albumina, triglicerídios e idade gestacional. O nível de significância adotado foi 5%.

## RESULTADOS

Os resultados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $\bar{x} \pm DP$ ) e estão apresentados nas tabelas 1 e 2. As médias das idades dos grupos de mulheres e homens não apresentaram diferença estatisticamente significativa. A glicemia de jejum e a glicemia de

2 horas após a sobrecarga oral de glicose não foram diferentes entre homens e mulheres ( $p = 0,08$  e  $p = 0,40$  respectivamente). Por outro lado, os valores de frutossamina encontrados foram de  $2,99 \pm 0,32$  mmol/l e  $2,70 \pm 0,26$  mmol/l, respectivamente, para homens e mulheres e essa diferença entre os sexos foi estatisticamente significativa ( $p = 0,002$ ). Não foi encontrada correlação entre frutossamina e glicose sérica em indivíduos normais ( $r = 0,11$  e  $p > 0,05$ ). Os valores de frutossamina de homens e mulheres apresentaram uma distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov).

TABELA 1

Valores de idade, glicemia 2 horas após sobrecarga oral de 75g de glicose, frutossamina e triglicerídios de homens (n=21) e mulheres (n=21). Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  desvio padrão e entre parênteses está colocado o intervalo de variação.

	HOMENS	MULHERES	"p"
IDADE (ANOS)	43 $\pm$ 14 (24-81)	39 $\pm$ 14 (22-71)	0,30
GLICOSE (mg/dl)	84 $\pm$ 24 (44-137)	95 $\pm$ 20 (62-130)	0,40
FRUTOSAMINA (mmol/l)	2,99 $\pm$ 0,32 (2,55-3,82)	2,70 $\pm$ 0,26 (2,34-3,39)	0,002
TRIGLICERÍDIOS (mg/dl)	124 $\pm$ 62 (37-210)	145 $\pm$ 135 (55-455)	0,68

TABELA 2

Valores de idade, idade gestacional, glicose 1 hora após sobrecarga oral de 50g de glicose, frutossamina medida, frutossamina corrigida pela albumina e albumina de gestantes normais (n=36). Os valores estão expressos como a média  $\pm$  desvio padrão e entre parênteses está colocado o intervalo de variação.

IDADE (anos)	IDADE GESTACIONAL (semanas)	GLICOSE (mg/dl)	FRUTOSAMINA MEDIDA (mmol/l)	FRUTOSAMINA CORRIGIDA (mmol/l)	ALBUMINA (mg/dl)
25 $\pm$ 7 (16-38)	28 $\pm$ 5 (17-37)	103 $\pm$ 17 (53-134)	2,40 $\pm$ 0,22 (1,81-2,89)	2,40 $\pm$ 0,22 (1,80-2,87)	4,1 $\pm$ 0,6 (3,0-5,4)

A distribuição gaussiana destes valores permitiu o cálculo da faixa de normalidade a partir de  $\bar{x} \pm 2 DP$  que foi de 2,35 — 3,63 mmol/l para homens e 2,18 — 3,22 para mulheres (Figura 2). Não foi encontrada correlação entre os valores de frutossamina e idade dos indivíduos ( $r = -0,01$  para mulheres e  $r = -0,24$  para homens).

No grupo de gestantes, os valores de frutossamina também apresentaram distribuição gaussiana. A glicemia uma hora após ingestão de glicose (GLI 1) foi de  $103 \pm 17$  mg/dl. A albumina sérica variou de 3,0 a 5,4 g/dl com  $\bar{x} \pm DP$  igual a  $4,1 \pm 0,6$  g/dl. A frutossamina sérica apresentou valores que variaram de 1,81 a 2,89 mmol/l, sendo  $\bar{x} \pm DP$  igual a  $2,40 \pm 0,22$  mmol/l. A frutossamina corrigida pela albumina apresentou  $\bar{x} \pm DP$  igual a  $2,40 \pm 0,22$  mmol/l, não sendo estatisticamente diferente dos valores de frutossamina sem correção. A faixa de normalidade de frutossamina determinada para o grupo de gestantes foi

de 1,96 — 2,84 mmol/l (Figura 2). Não foi encontrada correlação significativa entre frutossamina e idade gestacional ( $r = -0,009$  e  $p = 0,58$ ). Os valores de frutossamina nas gestantes e nas mulheres apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,00003$ ).

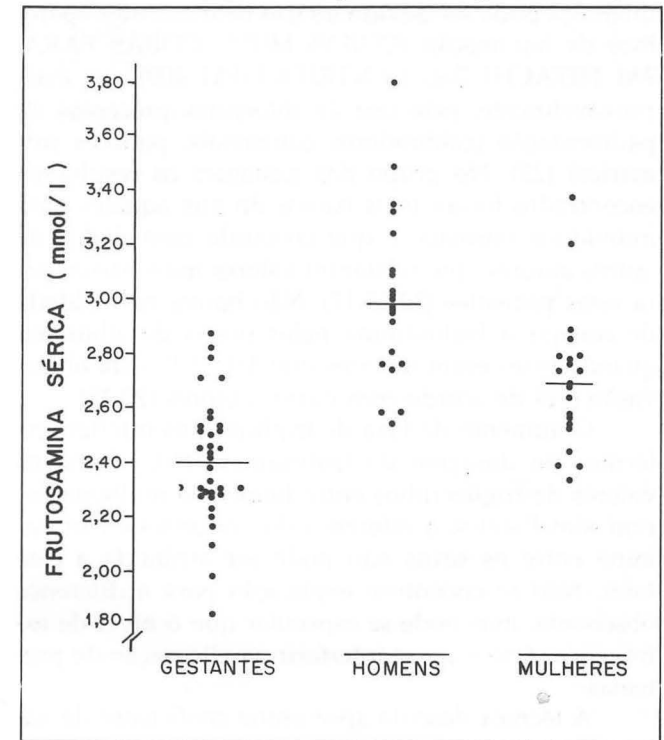


Figura 2 — Valores de frutossamina em homens, mulheres e gestantes (idade gestacional de 17-37 semanas).

Os resultados das dosagens de triglicerídios não foram diferentes entre homens e mulheres, sendo  $124 \pm 62$  mg/dl para homens e  $145 \pm 135$  mg/dl para mulheres. Não houve correlação significativa entre os valores de frutossamina e de triglicerídios no grupo todo ( $r = -0,23$  e  $p = 1,00$ ).

A técnica para frutossamina apresentou um coeficiente de variação de 2-3% intra-ensaio e de 1,5-2% interensaio.

## DISCUSSÃO

No presente estudo foi determinado o intervalo normal de valores de frutossamina a partir de um grupo de gestantes e de indivíduos normais. As faixas de normalidade foram de 2,35-3,63 mmol/l para homens, 2,18-3,22 mmol/l para mulheres e de 1,96-2,84 mmol/l para gestantes. Esses valores derivaram da  $\bar{x} \pm 2 DP$  e a utilização deste critério, para constituir uma faixa de normalidade, foi adequada, já que se observou que a frutossamina apresentou distribuição normal, em homens, mulheres e gestantes.

Os resultados encontrados revelaram uma diferença significativa entre os valores de homens e mu-

lheres e diferiram dos dados citados em outros trabalhos (10,13). A faixa de normalidade apresentou valores mais altos do que aqueles previstos na literatura (10,13), o que reforça a necessidade de cada laboratório estabelecer seus próprios valores normais. Essa diferença pode ser devido ao uso de diferentes aparelhos de automação (COBAS MIRA, COBAS FARA, BM HITACHI 704, CENTRIFICHEM 400) ou, mais provavelmente, pelo uso de diferentes processos de padronização (calibradores comerciais, padrões primários) (22). No grupo das gestantes os resultados encontrados foram mais baixos do que aqueles para indivíduos normais, o que concorda com dados de outros autores, que relataram valores mais baixos para estas pacientes (12,13,17). Não houve necessidade de corrigir a frutossamina pelos níveis de albumina quando esses eram maiores que 3,0 g/dl. Esta observação está de acordo com outros autores (20,23).

O aumento da taxa de triglicerídios interfere na técnica de dosagem da frutossamina (10). Como os valores de triglicerídios entre homens e mulheres foram semelhantes, a diferença dos valores de frutossamina entre os sexos não pode ser atribuída a este fator. Não se encontrou explicação para a diferença observada, mas pode-se especular que o nível de estrogênios séricos possa interferir na glicosação de proteínas.

A técnica descrita apresentou coeficiente de variação de 2-3% intra-ensaio e de 1,5-2% interensaio. Estes valores são semelhantes aos descritos por outros autores (10).

Ao contrário da medida da hemoglobina glicosada, que é uma técnica laboriosa, de alto custo e não permite armazenar amostras (10,24), a frutossamina se revela como um parâmetro importante no controle do paciente diabético. Em nosso laboratório a técnica utilizada para dosar hemoglobina glicosada é a cromatografia de troca iônica, que pode ser afetada por variações de temperatura e pH (10,25), e sofre influências da alteração de carga da hemoglobina pela uremia, ingestão de aspirina e álcool (25). Outro fator importante, que pode falsear os resultados da hemoglobina medida por troca iônica, é a presença de variantes de hemoglobina, tais como as hemoglobinas S, C, D e E que são eluídas mais lentamente durante a cromatografia de troca iônica (25).

Devido a esses inúmeros fatores, acredita-se que a frutossamina seja um parâmetro alternativo para a avaliação do controle metabólico em pacientes diabéticos e que se correlaciona muito bem com a hemoglobina glicosada ( $r = 0,87-0,97$ ) (10,15) e também com a albumina glicosada ( $r = 0,75-0,99$ ) (26,27). Em um estudo preliminar (28), que avaliou o controle metabólico de pacientes com diabetes mellito tipo II, observou-se que a frutossamina apresentava uma excelente correlação ( $r = 0,74$ ) com a glicemia em jejum.

Adicionalmente, o teste é consideravelmente mais barato, sendo o custo do reagente de frutossamina 50 vezes menor que o do reagente de hemoglobina glicosada por teste. Usando um analisador automático, a frutossamina se torna um método simples, rápido e preciso de avaliar o controle metabólico em pacientes diabéticos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROTH M. "Glycated Hemoglobin", not "Glycosylated" or "Glycosylated" Clin Chem 1983; 29:1991, [letter].
2. HOLMQUIST WR, SCHROEDER WA. A new N-terminal blocking group involving a Schiff base in hemoglobin A1c. Biochemistry 1966; 5:2489-513.
3. FLUCKIGER R, WINTERHALTER KH. In vitro synthesis of Hemoglobin A1c. FEBS 1976; 71:356-60, [letter].
4. MOHAMMAD A, FRAENKEL-CONRAT H, OLCOTT HS. The "browning" reaction of proteins with glucose. Arch Biochem Biophys 1959; 42:945-60.
5. HODGE JE, RIST CE. The Amadori rearrangement under new conditions and its significance for non-enzymatic browning reactions. J Am Chem Soc 1953; 75: 316-22.
6. DOHLFER R, WIELAND OH. Glycosylation of serum albumin: elevated glycosyl-albumin in diabetes patients. FEBS 1979; 103:202-6 [letter].
7. DOHLFER R, WIELAND OH. Increase Glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus. Diabetes 1980; 29:417-22.
8. JONES IR, OWENS DR, WILLIAMS S et al. Glycosylated serum albumin an intermediate index of diabetic control. Diabetes Care 1983; 6:501-503.
9. McFARLAND KF, CATALANO EW, DAY FJ et al. Nonenzymatic Glycosylation of serum proteins in diabetes mellitus. Diabetes 1979; 28:1011-14.
10. JONHSON RN, METCALF PA, BAKER JR. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosyl protein. An index of diabetic control. Clin Chem Acta 1982; 127:87-95.
11. ARMBRUSTER DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. Clin Chem 1987; 33:2153-63.
12. FRANDSEN EK, SABAGH T, BACCHUS RA. Serum fructosamine in diabetic pregnancy. Clin. Chem 1988; 34:316-19.
13. WINDELER J, KÖBBERLING J. The fructosamine assay in diagnosis and control of diabetes mellitus. J Clin Chem Clin Biochem 1990; 28:129-38.
14. LLOYD D, MARPLES J. Simple Colorimetry of Glycated Protein in a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1984; 30:1686-89.
15. LIM YS, STALEY MJ. Measurement of plasma fructosamine evaluated for monitoring diabetes. Clin Chem 1985; 31:731-33.
16. DESJARLAIS F, COMTOIS R et al. Technical and clinical evaluation of fructosamine determination in serum. Clin Biochem 1989; 22:329-35.
17. VAN DIEIJEN-VISSER MP, SALEMANS T, VAN WERSCH JWJ et al. Glycosylated serum proteins and glycosylated haemoglobin in normal pregnancy. Ann Clin Biochem 1986; 23:661-66.
18. WHO Study Groups. Diabetes Mellitus. Technical Reports Series 727. 1985 World Health Organization.
19. ROCHA ML, SARTORI NC, LÁZARO L, RODRIGUES VH, KRUSE W, GROSS JL. Diabetes Mellito Gestacional — Análise de Testes de Rastreamento. Rev Ass Med Brasil 1986; 32:115-17.
20. HOWEY J, BROWNING MCK, FRASER CG. Assay of serum fructosamine that minimizes standardization and matrix problems: Uses to assess components of biological variation. Clin Chem 1987; 33:269-72.
21. DHARAN M. Total Quality Control in the Clinical Laboratory. Saint Louis: The C V Mosby Company, 1977.
22. FRANDSEN EK, BACCHUS RA, MOAZ A, SABAGH T. Relative potency of commercial calibrators for fructosamine, and their effect on measurements of fructosamine in serum. Clin Chem 1989; 35:712 [letter].

23. VAN DIEIJEN-VISSER MP, SEYNAEVE C, BROMBACHER PJ. Influence of variation in albumin or total-protein concentration on serum fructosamine concentration. Clin Chem 1986; 32:1610 [letter].
24. BOYE N, INGERSLEV J. Rapid and inexpensive microdetermination of serum fructosamine results in diabetics, uraemics, diabetics with uraemic and healthy subjects. Scand j Clin Lab Invest 1988; 48:779-85.
25. SÁ JR, RUSSO E et al. Comparação entre os métodos de cromatografia de troca iônica e cromatografia de afinidade para a dosagem de hemoglobina glicosada (HbA1) Arq Bras Endocrinol Metabol 1987; 31:1-3.

26. WINOCOUR PH, BHATNAGAR MB et al. Relative clinical usefulness of glycosylated serum albumin and fructosamine during short-term changes in glycemic control in IDDM. Diabetes Care 1989; 12:665-72.
27. LLOYD DR, NOTT M, MARPLES J. Comparison of serum fructosamine with glycosylated serum protein for the assessment of diabetic control. Diabetic Medicine 1985; 2:474-78.
28. SILVEIRO SP, CAMARGO JLC, GASTALDO G, GROSS JL. Serum fructosamine is a reliable index of metabolic control in non-insulin-dependent diabetic patients. XII Panamerican Congress of Endocrinology Recife, PE, 1990; [abstract].