

ESTUDO LONGITUDINAL DA CONCENTRAÇÃO DE FRUTOSAMINA SÉRICA EM DOENTES DIABÉTICOS (TIPO 1 e TIPO 2)

FRANCISCA FERNANDES, ISABEL NETO, CRISTINA PINTO, JORGE PARREIRA, ODETE ANDRÉ, PEDRO LISBOA, MARIA AZEVEDO, CARLOS MANSO

Centro de Metabolismo e Endocrinologia. Instituto de Química Fisiológica . Faculdade de Medicina de Lisboa . 1600 LISBOA

RESUMO

Durante 12 semanas foi feito um estudo longitudinal em que foram determinadas glicémias e concentrações de frutosamina plasmática em 32 doentes diabéticos, sendo 16 doentes tipo I e igual número do tipo II. Verificou-se elevação da frutosamina plasmática ao longo desse tempo em qualquer dos grupos, contudo a sua relação com a glicémia era diferente de acordo com o tipo de diabetes — elevação de glicémia e frutosamina no tipo II. No tipo I, embora a frutosamina plasmática estivesse sempre elevada, por vezes a glicémia estava normal no momento da colheita. Os nossos estudos tendem a confirmar que a determinação da frutosamina plasmática é um bom índice do controle metabólico do doente diabético, que por vezes pode apresentar normoglicémia num determinado momento.

SUMMARY

Longitudinal study of serum fructosamine in diabetic patients (type 1 and type 2)

In a longitudinal study lasting for 12 weeks the Authors determined blood sugar and serum fructosamine in 32 diabetic patients, 16 type I and 16 type II. Plasma fructosamine elevation has a different relation to blood sugar according to the type of diabetes. In type I serum fructosamine is continually elevated, although blood sugar may be normal at the time of collection of the blood sample. In type II blood sugar and serum fructosamine are continually elevated. In conclusion we consider that the determination of serum fructosamine is a good index of metabolic control of the diabetic patient and its variation is dependent of blood sugar.

INTRODUÇÃO

A glicosilação não enzimática das proteínas é seguramente uma das principais causas responsáveis pelas complicações tardias da diabetes.

É difícil averiguar se a maior responsabilidade pertence ao processo de transformação de proteínas, devido à sua glicosilação não enzimática, ou à activação da aldose redutase, resultante da hiperglicémia.^{1, 2}

Além da alteração das funções e da estrutura das proteínas em consequência da ligação da glucose ao grupo amina destas proteínas, formam-se compostos ditos de *Maillard tardios*, que são lesivos e letais para as células.^{3, 4}

Estes compostos podem causar morte celular numa concentração infima. É o que se passa com o 2-furoil-4(5)-2(furanil)-1-H-imidazol (FFI) proveniente da glicosilação não enzimática das proteínas. Este composto acumula-se nos tecidos, in vivo. A sua acção citotóxica para linfócitos é potenciada pela acção do sistema de monoxigenases do citocromio P450, que permite a ligação covalente do FFI a macromoléculas.⁵

Este achado permite sugerir que os mecanismos patogénicos incriminados nas complicações crónicas da diabetes têm um componente genético dependente da variação individual hereditária da actividade dos enzimas do sistema do citocromio P450.⁵

Mas, também, a activação da aldose redutase pela hiperglicé-

mia, origina a partir do sorbitol, frutose. A glicosilação das proteínas pela frutose dá origem a compostos lesivos para as células — os frutocromos, que são fluorescentes. Assim, os frutocromos podem estar envolvidos nas complicações da diabetes, relacionadas com a via dos poliois.⁶

O doseamento da hemoglobina glicosilada A1C tem servido de parâmetro da glicosilação não enzimática e por essa forma, do controle metabólico do doente diabético.^{7, 8}

Está a tentar usar-se, como indicador do controle metabólico, a determinação da glicosilação das proteínas do plasma.^{9, 10}

Num trabalho anterior determinámos a concentração da frutosamina sérica de doentes diabéticos. Verificámos que existia uma elevação significativa nos diabéticos, quando comparados com o grupo controle, contudo não existia diferença entre os grupos de diabéticos (tipo 1 e tipo 2).¹¹

Conforme já esperávamos não encontramos nesse trabalho relação entre as concentrações de frutosamina e as complicações crónicas da diabetes. O que é perfeitamente lógico, pois não seria possível que isso acontecesse com uma única determinação da concentração de frutosamina, num determinado momento.

Fomos repetir o trabalho, determinando a concentração de frutosamina ao longo de 12 semanas em diabéticos tipo 1 e tipo 2, sem e com complicações crónicas, para verificar qual a variação, quer da glicémia quer das concentrações de frutosamina num determinado período (de 15 em 15 dias).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 32 doentes diabéticos da Consulta Externa do Departamento de Diabetologia do Serviço IV do Hospital de Santa Maria (12 Homens e 20 Mulheres, com idades entre 12 e 72 anos. Média 46,15 anos).

Como grupo controle foram comparados indivíduos escolhidos entre dadores de sangue e pessoal do nosso laboratório (32 Homens e 40 Mulheres, com idades entre 21 e 64 anos. Média 38,6 anos).

Como lesões de microangiopatia foram consideradas retinopatia e nefropatia. A retinopatia foi estabelecida por exame oftalmológico e a nefropatia pela persistência de albuminúria pelo doseamento de creatinina ou ureia no plasma.

Tanto nos indivíduos normais como nos diabéticos, o sangue foi colhido por punção venosa para um tubo seco, num tempo que variava de 3 a 4 horas a seguir ao pequeno almoço. Após coagulação, o soro era separado por centrifugação e guardado a -20°C até ser utilizado.

A determinação da frutossamina foi feita segundo o método referido por Johnson que se baseia na redução do Nitro Blue tetrazolium (NBT) pela frutossamina, em meio alcalino.¹²

Fez-se uma curva padrão de 1-desoxi-morfolinofrutose (DMF) que mostrou linearidade entre 0,5 e 4mMoles/L.

A glicémia foi determinada pelo método da glucose oxidase (Kit da Sigma) com modificações feitas por nós.¹³

A albumina, o NBT e o DMT foram obtidos da Sigma. Os restantes reagentes, todos da máxima pureza, foram fornecidos pela Merck.

RESULTADOS

No Quadro 1 apresentamos os resultados obtidos quando se compara a glicémia e a frutossamina plasmática de um grupo de diabéticos com indivíduos normais. É de notar a diferença altamente significativa observada ($p < 0,001$).

Da mesma forma que em relação ao que acontecera no trabalho anterior, não encontramos qualquer relação entre a concentração da frutossamina sérica e as complicações da diabetes (resultados não apresentados).

No estudo longitudinal, o sangue era retirado quinzenalmente, para glicémia e frutossamina, sempre com o mesmo intervalo após o pequeno almoço (3 a 4 horas).

Apresentamos a representação gráfica dos valores obtidos (frutossamina e glicémia) em 12 doentes, sendo 6 do tipo 1 e os outros 6, do tipo 2 (Fig. 1).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Existe grande variação de glicémia nos doentes diabéticos tipo 1, conforme se visualiza pela análise dos respectivos gráfi-

QUADRO 1 Concentração da frutossamina em doentes diabéticos

Grupo	Glicémia mg/dl			Frutossamina m mol/L		
	N	X	SD	N	X	SD
Diabéticos	32	231,7	104,5	32	2,07	0,239
Controle	72	82,7	14,4	72	1,48	0,130

t de Student

frutossamina $t = 16,73$; $n=102$; $p<0,001$

glicémia $t=14,772$; $n=102$; $p<0,001$

cos. É pois, evidente a dificuldade em controlar doentes deste tipo de diabetes.

Só representámos 6 casos de cada tipo de diabetes, para não tornar exaustiva a análise dos respectivos gráficos (16 do tipo 1 e 16 do tipo 2).

De uma forma geral, os gráficos apresentados são indicadores do comportamento de dois tipos de diabetes:

Frutossaminas elevadas tanto na diabetes tipo 1 como na tipo 2. Glicémias também elevadas, mas com grandes variações nos diabéticos tipo 1.

Parece-nos que haveria interesse em seguir num estudo longitudinal mais prolongado, se possível, ao longo de anos, doentes diabéticos, cuja diabetes estivesse no estado inicial, tentando por esse processo encontrar uma correspondência entre as concentrações mantidas de frutossamina e as complicações tardias que esses doentes viessem a ter.

Para concluir, diríamos que a determinação da frutossamina plasmática parece ser um óptimo meio de verificar o que se passou num determinado tempo (15 a 30 dias, em relação à variação das glicémias de doentes diabéticos, tanto do tipo 1, como do tipo 2).

A confirmar a nossa opinião citamos a afirmação de Lloyd e Marples¹⁴ que *o doseamento de frutossamina é um meio preciso rápido e económico de monitorizar o controle da glicémia.*

Da mesma opinião são Baker e col¹⁵ que ainda demonstram uma significativa correlação entre a hemoglobina A1c e a frutossamina, obtida no estudo de 115 diabéticos do tipo 2.

Uma correlação semelhante foi por nós verificada em trabalho anterior.¹⁶

Também Seng e Staley¹⁷ demonstram a estabilidade dos valores de frutossamina no plasma de dia para dia, e concluem que a sua determinação serve para avaliar o controle da glicémia, desde que o turnover das proteínas do plasma seja normal.

BIBLIOGRAFIA

1. BRAWNLEE M., VLASSARA H., CERAMI A. — Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Annals of Internal Med.* 101, 527, 1984.
2. COGAN D.G., KINOSHITA J.H., KADOS D.W., ROBINSON G., DATILIS M.B., COBO L.M. e KUPFFER C. — Aldose reductase and complications of diabetes. *Annals Int. Med.* 101, 82, 1984.
3. FRIEDMAN M. — Chemically reactive lysine as an index of browning. *Diabetes* 31, sup. 3, 5, 1982.
4. LEE T.C., PINTAURO S., CHICHESTER C. — Nutritional and toxicologic effects of nonenzymatic Maillard browning. *Diabetes* 31, sup. 3, 3, 1982.
5. BROWNLEE M., ULRICH P., VLASSARA H. e CERAMI A. — A furan-containing nonenzymatic glycosylation product causes P450. Enzyme mediated cytotoxicity. *Diabetes* 34, 13A, 1985.
6. SUAREZ G., RAJARAM R., GROWSKY A.L. e BALAGI V.N. — Fructochromes — a class of highly fluorescent products of nonenzymatic fructosylation of protein. *Diabetes* 34, sup. 1, 193 A, 1985.
7. DAY J.F., CARMEL G., INGEBRETSEN G., WILLIAM R., YNGBRETSEN J.R., BAYNES J.W. e THORBE S.R. — Nonenzymatic glycosylation of serum proteins and hemoglobin: response to changes in blood glucose levels in diabetic rats. *Diabetes* 29, 524, 1980.
8. JOVANOCIC L., PETERSON C.M. — The clinical utility of glycosylated hemoglobin. *The Am. J. of Med.* 70, 331, 1981.
9. BUNN H.F. — Nonenzymatic glycosylation of proteins: relevance to diabetes. *The Am. J. Med.* 70, 325, 1981.
10. SCHLEICHER E.D., GERBITZ K.D. ET AL — Clinical utility of nonenzymatically glycosylated blood proteins as an index of glucose control. *Diabetes Care* 7, 548, 1984.
11. SILVA A.P., FERNANDES F., AZEVEDO M., LISBOA P. e MANSO C. — Determinação da frutosamina sérica em doentes diabéticos como indicadores do seu controle metabólico. *J. Cienc. Med.* 149, 231, 1985.
12. JOHNSON R., METCALF P. e BAKER J. — Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein: an index of diabetic control. *Clin. Chim. Acta* 127, 87, 1982.
13. AZEVEDO M. — Estudo de alguns aspectos bioquímicos da diabetes mellitus humana e experimental. Tese de Doutoramento, Lisboa, 1981.
14. LLOYD D., MARPLES J. — Serum fructosamine and assay pH. *Clin. Chem.* 31, 1764, 1985.
15. BAKER J., METCALF P., JOHNSON R., NEWMAN D., RIETZ P. — Use of protein based standards in automated colorimetric determinations of fructosamine in serum. *Clin. Chem.* 31, 1550, 1985.
16. NETO I., AZEVEDO M., MANSO C. — Glicosilação não enzimática de proteínas: comparação de métodos colorimétricos e interesse clínico. *Arq. Port. Ciências Biológicas* (em publicação).
17. SENG L., STALET M. — Measurement of plasma fructosamine evaluated for monitoring diabetics. *Clin. Chem.* 31, 731, 1985.