Volume

7

VALTER T. MOTTA

Bioquímica Clínica: Princípios e Interpretações

Carboidratos

CARBOIDRATOS

Os carboidratos são as fontes mais importantes de energia do organismo. São poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas, ou ainda, substâncias que por hidrólise formam aqueles compostos. São classificados como: monossacarídios, oligossacarídios e polissacarídios.

Os monossacarídios são açúcares simples constituídos por uma única unidade poliidroxialdeídica ou cetônica contendo 3 a 9 átomos de carbono, sendo o principal combustível para a maioria dos seres vivos. Os mais freqüentes no homem são a *glicose, frutose* e *galactose*, todos com seis átomos de carbono.

Os oligossacarídios são formados por ligações glicosídicas de dois ou mais (até dez) monossacarídios. Apesar da grande variedade de combinações possíveis, são três os mais importantes neste contexto: *maltose*, composta de duas moléculas de glicose; *sacarose*, formada por uma molécula de glicose e uma de frutose; e *lactose*, constituída por uma molécula de glicose e uma de galactose.

Os polissacarídios são carboidratos de elevada massa molecular formados por mais de dez unidades monossacarídicas. O *amido* (forma de armazenamento para a glicose nos vegetais) é o principal polissacarídio da dieta. É constituído por uma mistura de dois polissacarídios: amilose e amilopectina. A amilose é composta por unidades repetitivas de glicose, unidas por ligações α-1,4 (cadeias lineares). A amilopectina é uma estrutura ramificada que além dos laços α-1,4, possui ligações α-1,6 nos pontos de ramificação. O *glicogênio* é a mais importante forma de polissacarídio de armazenamento para a glicose nos animais. Sua estrutura é similar à amilopectina.

Os carboidratos da dieta fornecem a maior parte das necessidades calóricas do organismo. A dieta média é composta de amido, sacarose e lactose. O glicogênio, maltose, glicose e frutose, presentes em certos alimentos, constituem uma fração menor dos carboidratos ingeridos.

Antes da absorção dos carboidratos pelas células do intestino delgado, é essencial que os polissacarídios e oligossacarídios sejam hidrolizados em seus componentes monossacarídicos. Este desdobramento ocorre seqüencialmente em diferentes locais do sistema digestório por uma série de enzimas.

O amido e o glicogênio são degradados pela enzima α-*amilase* (salivar e pancreática) formando maltose e isomaltose. Estes dois produtos são hidrolizados em glicose por enzimas ligadas à membrana da borda em escova intestinal: *maltase* e *isomaltase*. Portanto, esta hidrólise ocorre na superfície das células da mucosa intestinal. Outras enzimas, que atuam na interface da luz e da célula, são: *sacarase*, que hidrolisa a sacarose em glicose e frutose; a *lactase*, que fornece glicose e galactose a partir da lactose.

Os principais monossacarídios obtidos por hidrólise (glicose, frutose e galactose) são absorvidos do lúmem para as células e levados ao fígado pelo sistema porta. A glicose no fígado é metabolizada ou armazenada como glicogênio. O fígado também libera glicose para a circulação sistêmica, tornando-a disponível a todas as células do organismo. A frutose e galactose são transformadas em outros compostos de acordo com as necessidades homeostáticas ou convertidas em glicose, a forma usual de açúcar circulante.

A concentração de glicose no sangue é regulada por uma complexa interrelação de muitas vias e modulada por vários hormônios. A *glicogênese* é a conversão de glicose a glicogênio, enquanto a *glicogenólise* é o desdobramento do glicogênio em glicose. A formação de glicose a partir de outras fontes não-carboidratos, como aminoácidos, glicerol ou lactato, é chamada *gliconeogênese*. A conversão da glicose ou outras hexoses em lactato ou

piruvato é denominada *glicólise*. A oxidação total da glicose em dióxido de carbono e água ocorre no ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico) e a cadeia mitocondrial de transporte de elétrons acoplada a fosforilação oxidativa, geram energia para formar ATP (adenosina trifosfato). A glicose também é oxidada em dióxido de carbono e água pela via *pentose fosfato*, com a produção de NADPH necessário para as reações anabólicas do organismo.

Bibliografia consultada

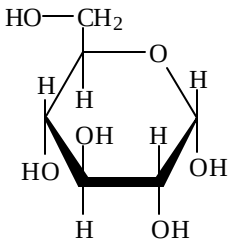
CAMPBELL, M. K. **Biochemistry.** 3 ed. Philadelphia : Saunders, 1999. p. 420-571.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de bioquímica.** 2 ed. São Paulo : Sarvier, 1995. p. 297-354.

STRYER, L. **Bioquímica.** 4 ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1995. p. 437-570.

GLICOSE, LACTATO E CETONAS

A glicose é a aldohexose mais importante para a manutenção energética do organismo:



Glicose

Em condições normais, a glicose sangüínea (glicemia) é mantida em teores apropriados por meio de vários mecanismos regulatórios. Após uma refeição contendo carboidratos, a elevação da glicose circulante provoca:

- Remoção pelo fígado de 70% da glicose transportada via circulação porta. Parte da glicose é oxidada e parte é convertida em glicogênio para ser utilizada como combustível no jejum. O excesso de glicose é parcialmente convertida em ácidos graxos e triglicerídios incorporados às VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa) e transportados para os estoques do tecido adiposo.

- Liberação de insulina pelas células β do pâncreas. Entre os tecidos insulino-dependentes estão o tecido muscular, adiposo, diafragma, aorta, hipófise anterior, glândulas mamárias e lente dos olhos. Outras células, como aquelas do fígado, cérebro, eritrócitos e nervos *não* necessitam insulina para a captação de glicose (insulino independentes).

- Aumento da captação da glicose pelos tecidos periféricos.

- Inibição da liberação do glucagônio.

- Outros hormônios (adrenalina, hormônio de crescimento, glicocorticóides, hormônios da tireóide) e enzimas, além de vários mecanismos de controle, também atuam na regulação da glicemia.

Estas atividades metabólicas levam a redução da glicemia em direção aos teores encontrados em jejum. Quando os níveis de glicose no sangue em jejum estão acima dos valores de referência, denomina-se *hiperglicemia*, quando abaixo destes valores, *hipoglicemia*.

A glicose é normalmente filtrada pelos glomérulos e quase totalmente reabsorvida pelos túbulos renais. Entretanto, quando os teores sangüíneos atingem a faixa de 160 a 180 mg/dL, a glicose aparece na urina, o que é denominado *glicosúria*.

Em todas as células, a glicose é metabolizada para produzir ATP e fornecer intermediários metabólicos necessários em vários processos biossintéticos.

HIPERGLICEMIA

A causa mais freqüente de hiperglicemia é o *diabetes mellitus*, um estado de intolerância à glicose e hiperglicemia em jejum resultante da ação deficiente da insulina. Apresenta, também, anormalidades no metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios.

Pacientes portadores de episódios hiperglicêmicos, quando não tratados, desenvolvem cetoacidose ou coma hiperosmolar. Com o progresso da doença aumenta o risco de desenvolver complicações crônicas características, tais como: *retinopatia, angiopatia, doença renal, neuropatia* (câimbras, paresteses dos dedos dos pés, dor nos membros inferiores, neuropatia do nervo craniano), *proteinúria, infecção, hiperlipemia* e *doença aterosclerótica*. Esta última pode resultar em *ataque cardíaco, gangrena* ou *enfermidade coronariana*. Os estados hiperglicêmicos são classificados:

Diabetes mellitus tipo 1 (Imuno-mediado). Este tipo compreende 5-10% de todos os casos de diabetes mellitus. Os sintomas são: poliúria, polidipsia, polifagia, perda inexplicada de peso, irritabilidade, infecção respiratória e desejo de bebidas doces. O aparecimento, em geral, é de forma subaguda ou aguda em indivíduos com menos de 20 anos. Estes pacientes tem deficiência de insulina e são *dependentes* da mesma para manter a vida e prevenir cetoacidose. Quando não tratada, surgem náuseas, vômitos, desidratação, estupor, coma e, finalmente, a morte. O diabetes do tipo 1 é caracterizado pela destruição das células β do pâncreas, levando a uma deficiência total de insulina pancreática. Apresenta a presença de anticorpos anti-insulina, anti-ilhotas e anti-GAD (descarboxilase do ácido glutâmico). Além do mecanismo auto-imune este diabetes pode ser idiopático.

Diabetes mellitus tipo 2. Ao redor de 80-90% de todos os casos de diabetes correspondem a este tipo. Ocorre, em geral, em indivíduos obesos com mais de 40 anos, de forma lenta e com história familiar de diabetes. Estes pacientes apresentam sintomas moderados e *não* são dependentes de insulina para prevenir cetonúria. Nestes casos os níveis de insulina podem ser: normais, diminuídos ou aumentados. É caracterizada pela relativa deficiência pancreática, ou de predominante deficiência pancreática com relativa resistência à ação insulínica. Raramente apresenta cetoacidose diabética

Outros tipos específicos de diabetes.

- *Defeitos genéticos das células **b**:* MODY 1, MODY 2, MODY 3 e outros. São formas raras de diabetes tipo 2. (MODY = *M*aturity *o*nset type of *d*iabetes of *y*outh).
- *Defeitos genéticos da ação da insulina:* diabetes lipo-atrófico, leprechauismo, síndrome de Rabson-Mendenhall, resistência à insulina A e outros.
- *Doenças do pâncreas exócrino:* pancreatites, trauma/pancreatectomia, neoplasia, hemocromatose, pancreatopatia, fibrocalculosa e outras.
- *Endocrinopatias:* acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma, somatostinoma, hipertireoidismo e outras.
- *Induzido por drogas ou substâncias químicas:* vacor – veneno de rato – pentamidine, ácido nicotínico, glicocorticóides, tiazídicos, hormônios tireoideos, agonistas β-adrenérgicos e outras.
- *Infecções:* rubéola congênita, citomegalovírus e outras.
- *Formas incomuns de diabetes imuno-mediado:* síndrome de "Stiff-man", anticorpos antireceptores de insulina e outros.
- *Outras síndromes genéticas associadas ao diabetes:* síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de Lawrence-Moon-Beidel, coréia de Huntington, síndrome de Prader-Willi e outras.

Diabetes mellitus gestacional. É a intolerância aos carboidratos de intensidade variada (diabetes e intolerância diminuída à glicose), diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez podendo ou não persistir após o parto. Estima-se que esta anormalidade seja encontrada entre 1-20% das grávidas. No entanto, somente ao redor de 3% é diabetes mellitus gestacional verdadeira. Em pacientes diabéticas grávidas, o controle insatisfatório da glicose está associado com alta incidência de morte intra-uterina e má formação fetal. Tolerância à glicose alterada e hiperglicemia estão relacionadas com o aumento na incidência de macrossomia fetal e hipoglicemia neonatal. Na maioria destes casos, a resposta ao TOTG (teste oral de tolerância à glicose, v. adiante) volta ao normal depois da gravidez, no entanto, ao redor de 50% destas pacientes desenvolvem diabetes mellitus nos sete anos seguintes.

INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL

O diagnóstico dos distúrbios no metabolismo da glicose depende da demonstração de alterações na

concentração de glicose no sangue. As várias desordens do metabolismo dos carboidratos podem estar associadas com (a) aumento da glicose plasmática (hiperglicemia); (b) redução da glicose plasmática (hipoglicemia) e (c) concentração normal ou diminuída da glicose plasmática acompanhada de excreção urinária de açúcares redutores diferentes da glicose (erros inatos do metabolismo da glicose). Os seguintes testes laboratoriais investigam alguns destes distúrbios.

Glicose plasmática em jejum

A determinação da glicemia é realizada com o paciente em jejum de 12-14 h. Resultados normais não devem excluir o diagnóstico de distúrbios metabólicos dos carboidratos. Os critérios para a avaliação em homens e mulheres não-gestantes são:

Normais: até 110 mg/dL
Glicemia de jejum inapropriada: de 110 a 126 mg/dL
Diabéticos: acima de 126 mg/dL

O valor de 126 mg/dL foi estabelecido pois níveis superiores provocam alterações microvasculares e elevado risco de doenças macrovasculares.

Glicose plasmática pós-prandial de duas horas

A concentração da glicemia duas horas após a ingestão de 75 g de glicose em solução aquosa a 25% (ou refeição contendo 75 g de carboidratos) é de considerável utilidade na avaliação do diabetes. Normalmente, após a ingestão de carboidratos, a glicose sangüínea tende a retornar ao normal dentro de duas horas.

Após duas horas da sobrecarga, os valores de glicemia plasmática ≥200 mg/dL são considerados diagnósticos de diabetes mellitus. Níveis entre 140 e 200 mg/dL são encontrados na "tolerância à glicose alterada" (v. adiante). Os indivíduos normais, que se submetem a esta prova, apresentam teores glicêmicos ≤140 mg/dL. Entretanto, medicações, agentes químicos, desordens hormonais e dietas devem ser considerados ao examinar estes resultados. Além disso, os valores tendem a crescer com a idade (10 mg/dL por década de vida, após a idade de 40 anos). Deste modo, concentrações acima de 200 mg/dL podem ser encontradas em indivíduos idosos que não apresentam diabetes.

Teste de O´Sullivan

O teste de O´Sullivan é empregado para detectar o diabetes gestacional e deve ser realizado entre 24ª e a 28ª semana de gestação. À paciente em jejum é administrada 50 g de glicose em solução aquosa a 25% por via oral. O sangue é colhido após 1 hora. Resultados iguais ou superiores a 140 mg/dL indicam a necessidade de um teste completo.

Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Medidas seriadas da glicose plasmática, nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após administração de 75 g de glicose anidra (em solução aquosa a 25%) por via oral fornece um método apropriado para o diagnóstico de diabetes. Apesar de mais sensível que a determinação da glicose em jejum, a TOTG é afetada por vários fatores que resulta em pobre reprodutibilidade do teste (Tabela 7.1). A menos que os resultados se apresentem nitidamente anormais, a TOTG deve ser realizada em *duas* ocasiões diferentes antes dos valores serem considerados anormais.

As crianças devem receber 1,75 g/kg de peso até a dose máxima de 75 g de glicose anidra.

A TOTG é indicada nas seguintes situações:

- Diagnóstico do diabetes mellitus gestacional (neste caso, é empregado o TOTG modificado, v. adiante).
- Diagnótico de "tolerância à glicose alterada" (ex.: em pacientes com teores de glicemia plasmática em jejum entre 110 e 126 mg/dL).

- Avaliação de pacientes com nefropatia, neuropatia ou retinopatia não explicada e com glicemia em jejum abaixo de 126 mg/dL.

Tabela 7.1. Fatores que afetam a TOTG

Antes do teste	*Durante o teste*
Ingestão de carboidratos	Postura
Tempo de jejum	Náusea
Cirurgia digestória	Ansiedade
Tiazidas	Cafeína
Estrogênios	Tabagismo
Fenitoína	Horário do dia
Propranolol	Atividade
Corticoesteróides	Quantidade de glicose ingerida
Idade	
Inatividade	
Peso	
Estresse (cirurgia, infecção)	

Para garantir a fidelidade nos resultados dos testes de tolerância à glicose, os seguintes cuidados devem ser tomados:

- Nos três dias que antecedem a prova, o paciente deve ingerir, pelo menos, 150 g de carboidratos.
- O paciente deve estar exercendo suas atividades físicas habituais, mantendo-se em regime alimentar usual, exceto pela adição da quantidade de carboidratos indicada no item anterior.
- Durante o teste, o paciente deve se manter em repouso e sem fumar.
- O paciente não deve estar usando medicação que interfira no metabolismo dos carboidratos.
- A prova deve ser realizada pela manhã com o paciente em jejum de 8-10 horas.

CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DOS ESTADOS HIPERGLICÊMICOS

O diagnóstico do diabetes mellitus depende da demonstração de hiperglicemia. Para o diabetes do tipo 1, a hiperglicemia aparece adruptamente, é severa e está acompanhada de distúrbios metabólicos. No diabetes mellitus do tipo 2 o diagnóstico deve ser cuidadoso pois as alterações da glicose podem ser moderadas. A seguir, os critérios de diagnóstico normalmente aceitos:

Diabetes mellitus em homens e mulheres não-grávidas. Qualquer dos achados a seguir é diagnóstico:

- Sintomas e sinais de diabetes (polidipsia, poliúria, emagrecimento, astenia, distúrbios visuais e outros) *e elevação casual* (sem observar o jejum) de glicose plasmática (≤200 mg/dL).
- Glicose plasmática em jejum de oito horas ≥126 mg/dL confirmado por um segundo teste.
- Glicose plasmática ≥200 mg/dL durante a TOTG aos 120 minutos após a sobrecarga.

Glicemia de jejum inapropriada (Impaired fasting glucose ou IFG). É definida pela glicemia em jejum igual ou maior que 110 mg/dL, mas menor que 126 mg/dL.

Tolerância à glicose diminuída (Impaired glucose tolerance ou IGT). É definida por glicose plasmática pós-prandial de duas horas (ingestão de 75 g de glicose anidra) maior que 140 mg/dL, mas menor que 200 mg/dL.

Diagnóstico do diabetes gestacional. Os indícios de diabetes gestacional incluem uma forte história familiar de diabetes, idade superior a 30 anos, história de gravidez com recém-nascidos grandes para a idade gestacional ou com mais de 4 kg, uma história inexplicada de morte fetal ou morte neonatal, história de diabetes gestacional, presença de hipertensão ou pré-eclâmpsia, história de reprodução dificultada, macrossomia ou polidrâmnio na gravidez atual. Achados clínicos suspeitos incluem obesidade ou ganho de peso na gravidez atual, glicosúria, infecções recorrentes por monília.

O teste tolerância à glicose e os critérios diagnósticos são ligeiramente diferentes em gestantes. Nestes casos, administra-se 100 g de glicose e as amostras de sangue são colhidas nos tempos 0,

60, 120 e 180 minutos. Os valores em mulheres não diabéticas são:

Jejum <105 mg/dL
Uma hora <190 mg/dL
Duas horas <165 mg/dL
Três horas <145 mg/dL

O diagnóstico de diabetes gestacional ocorre quando dois desses limites forem atingidos ou ultrapassados.

Em gestantes a partir da 20ª semana de gravidez, indica-se glicemia em jejum como teste de rastreamento. Valores maiores que 85 mg/dL são considerados positivos sendo necessário proceder ao TOTG. Considera-se, também, confirmatórios de diabetes gestacional valores obtidos de duas glicemias em jejum ≥ 105 mg/dL.

CRITÉRIOS PARA A TRIAGEM DO DIABETES EM ASSINTOMÁTICOS

O teste diagnóstico deve ser considerado em todos os indivíduos de 45 anos ou mais e, se normal, repetido a cada 3 anos. Também devem ser realizados em adultos de qualquer idade ou mais freqüentemente nos de 45 anos para cima, nas seguintes situações:

- Com excesso de peso (≥120% do peso ideal).
- Com parentesco em primeiro grau com diabéticos.
- Membros de grupos étnicos de alto risco (afro-americanos, hispânicos, asiáticos, indígenas americanos e outros).
- Com história de macrossomia fetal (>4 kg) ou diagnóstico anterior de diabetes gestacional.
- Com hipertensão (≥140/90).
- Com colesterol-HDL ≤35 mg/dL e/ou triglicerídios ≥250 mg/dL.
- Com teste prévio positivo de "glicemia de jejum inapropriada" ou "tolerância à glicose alterada".

CONSEQÜÊNCIAS METABÓLICAS DO *DIEBETES MELLITUS*

O defeito básico no diabetes mellitus é a deficiência insulínica (absoluta ou relativa) que afeta o metabolismo da glicose, lipídios, proteínas, potássio e fosfato. Além disso, influencia indiretamente a homeostase do sódio e água. Nos casos severos de diabetes (tipo 1) não-tratado encontram-se ainda cetoacidose, distúrbios ácido-básicos e hipertrigliceridemia.

Hiperglicemia. Promovida pela elevação da produção hepática e diminuição da captação celular de glicose.

- *Aumento da produção hepática:* a falta de insulina e as ações opostas do glucagon e adrenalina causam redução da glicogênese e o incremento da glicogenólise. Além disso, a ação do cortisol (insulina baixa) eleva a gliconeogênese.
- *Redução da captação periférica:* a deficiência insulínica inibe a captação celular de glicose e da glicólise. Outros substratos (ácidos graxos, cetonas) são utilizados para a produção de energia.
- Como conseqüência da hiperglicemia tem-se:
- Elevação da glicose urinária com diurese osmótica e a conseqüente perda de água, sódio, potássio e fosfato, produz a depleção destas substâncias.
- Aumento da tonicidade do líquido extracelular que extrai água das células produzindo desidratação celular e, se houver ingestão de água, a diluição dos constituintes extracelulares levando à hiponatremia (hipertônica).

Distúrbios do metabolismo protéico. O diabetes é um estado catabólico associado com perda protéica, principalmente pela elevação da gliconeogênese – para cada 100 g de glicose formada, ao redor de 175 g de proteínas são destruídas.

Distúrbios do metabolismo lipídico. A deficiência insulínica e a ação oposta do glucagon e adrenalina

estimulam a lipólise e a liberação de ácidos graxos para a circulação. Estes são captados para serem convertidos em energia (β-oxidação), cetonas e triglicerídios que são liberados pelo fígado na forma de VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa). Além do mais, a deficiência insulínica inibe a atividade da lipase lipoprotéica que reduz o desdobramento tanto das VLDL como dos quilomícrons, elevando os níveis de trigliceridemia.

Hiperpotassemia. Uma das ações da insulina é a captação de íons potássio pelas células. Na redução da insulina o potássio deixa as células, provocando hiperpotassemia. Parte deste potássio é perdido na urina como conseqüência da diurese osmótica, causando depleção de potássio na ordem de 200-400 mmol. Quando a insulina é administrada, o potássio extracelular retorna às células o que pode resultar em hipopotassemia severa a menos que suplementos de potássio sejam administrados.

Hiperfosfatemia. A insulina ao estimular a glicólise utiliza fosfato inorgânico (produção de ATP etc.), o que eleva a captação celular de fosfato. Na falta de insulina, este íon é liberado das células, promovendo hiperfosfatemia. Parte do mesmo é perdido na urina causando déficit no organismo. Quando a insulina é administrada ele volta para as células, produzindo hipofosfatemia severa.

Distúrbios ácido-base. No diabetes tipo 1 é freqüente a acidose metabólica devido a cetoacidose diabética. Os níveis de bicarbonato plasmático podem atingir valores abaixo de 5 mmol/L com pH de 6,8. Pode existir também uma acidose láctica moderada associada.

Distúrbios do sódio e água. A hiponatremia pode ocorrer como conseqüência da hiperglicemia extracelular. Além disso, devido a hiperlipidemia pode existir pseudohiponatremia. Também ocorre a depleção do sódio total do corpo pela perda renal como conseqüência da diurese osmótica.

Em pacientes conscientes, a perda de água é compensada pela ingestão oral. Pacientes graves podem desidratar-se e, dependendo do grau de desidratação, o sódio plasmático aumenta levando a uma hipernatremia.

COMPLICAÇÕES DO *DIABETES MELLITUS*

Do ponto de vista bioquímico as principais complicações são:

- Cetoacidose diabética.
- Coma hiperosmolar.
- Acidose láctica.
- Doença renal.
- Hiperlipidemia.

CETOACIDOSE DIABÉTICA

A cetoacidose diabética pode estar presente em pacientes ainda não diagnosticados como diabéticos. Em pacientes diabéticos, a cetoacidose pode ser precipitada pela deficiência profunda de insulina (falta da aplicação ou por dose inadequada), níveis elevados de hormônios contra-reguladores (glucagon, cortisol, hormônio de crescimento, adrenalina e noradrenalina), infecções intercorrentes, trauma, infarto do miocárdio, episódios tromboembólicos, crises hipertensivas, vômitos, exercícios físicos esporádicos ou estresse emocional. As características clínicas são: desidratação, cetoacidose, depleção eletrolítica e hiperventilação.

A cetoacidose pela deficiência de insulina acompanhada por hormônios contra-reguladores resultam em hiperglicemia (a degradação de proteínas fornece aminoácidos para a gliconeogênese) e na mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo (aumento da ação da enzima lipase hormônio sensível) com o subseqüente aumento da formação hepática de corpos cetônicos. Estes, por suas características de ácidos fracos, exaurem as reservas disponíveis de tampão, provocando cetoacidose.

A hiperglicemia causa hiperosmolalidade extracelular que leva tanto à desidratação intracelular como também, à diurese osmótica. A diurese osmótica provoca perda de água, Na^+, K^+, cálcio e

outros constituintes inorgânicos e sobrevém redução do volume de sangue circulante. O aumento na produção de corpos cetônicos estabelece uma acidose metabólica com hipercalemia associada. Acidose láctica e uremia pré-renal podem também estar presentes. As principais características laboratoriais da cetoacidose são:

- Hiperglicemia, geralmente >300 mg/dL.
- Acidose metabólica com aníons indeterminados elevados, pH sangüíneo <7,30 e bicarbonado <15 mmol/L.
- Cetonemia e cetonúria (diluição >1:2)
- Hiperpotassemia.
- Hiperfosfatemia.

Dois outros dados de interesse bioquímico dizem respeito a amilase e a creatinina:

- Elevações da amilasemia são comuns durante a cetoacidose diabética e como estes pacientes muitas vezes apresentam dor abdominal, são realizados diagnósticos errôneos de pancreatite aguda.
- Os níveis de creatinina estão elevados em virtude da desidratação, mas também porque o acetoacetato interfere positivamente na reação de Jaffé.

Pacientes com cetoacidose diabética apresentam polidipsia, poliúria, cefaléia, náusea, vômitos e dor abdminal.

CORPOS CETÔNICOS

Os corpos cetônicos consistem de acetoacetato, β-hidroxibutirato e acetona, sendo formados no fígado a partir do acetil CoA derivado da oxidação dos ácidos graxos livres provenientes do tecido adiposo. Quando ocorre redução na utilização de carboidratos (ex.: diabetes mellitus) ou falta de carboidratos na dieta (ex.: inanição) acontece um aumento na produção de corpos cetônicos, levando a um acúmulo dos mesmos no sangue que excedem a capacidade dos tecidos periféricos em metabolizá-los. Os corpos cetônicos estão presentes no sangue na seguinte proporção: β-hidroxibutirato (78%), acetoacetato (20%) e acetona (2%). No diabetes severo, a relação β-hidroxibutirato/acetato pode atingir, ao redor de 8:1 dependendo da presença de NADH suficiente que favorece a produção de β-hidroxibutirato.

Teores anormalmente elevados de corpos cetônicos no sangue (*cetonemia*) ultrapassam o umbral renal provocando o aparecimento de *cetonúria*. O acúmulo destes compostos no sangue leva à cetoacidose (acidose metabólica). O *diabetes* e o *consumo de álcool* são as causas mais comuns de cetoacidose.

Quando os tecidos não conseguem metabolizar completamente os corpos cetônicos formados pelo excesso de produção, tem-se uma acidose metabólica. A acidose é parcialmente compensada pela hiperventilação, com redução da pCO_2. Na acidose, também, o H^+ desloca-se para o interior das células enquanto o K^+ deixa o espaço intracelular.

Nenhum dos métodos laboratoriais detectam simultaneamente os três corpos cetônicos no sangue ou urina. Os mais comuns detectam *somente o acetoacetato* não reagindo com o β-hidroxibutirato. Este fato pode produzir uma situação paradoxal. Quando um paciente apresenta inicialmente cetoacidose, o teste para cetonas pode estar levemente positivo. Com a terapia, o β-hidroxibutirato é convertido em acetoacetato parecendo que *a cetose está mais intensa*.

O teste para detectação de cetonas na urina é recomendado no *diabetes tipo 1:* (a) durante crises agudas ou estresse; (b) quando os teores de glicose ultrapassam 240 mg/dL; (c) durante a gravidez; (d) ou quando os sintomas de cetoacidose estão presentes. Estes testes na urina são descritos no capítulo “Função renal”.

A quantificação da acetona, acetoacetato e β-hidroxibutirato é realizada por colorimetria, enzimologia, cromatografia gasosa ou eletroforese capilar.

Os constituintes avaliados na cetoacidose diabética além da glicose e corpos cetônicos, são: (a) o Na^+ que pode estar normal ou inicialmente baixo; (b) o K^+ que pode estar normal mas, em

geral, está elevado; (c) a uréia apresenta valores aumentados devido a desidratação. A gasometria arterial apresenta o CO_2 total reduzido, às vezes abaixo de 5 mmol/L nos casos severos. Outros resultados de gasometria indicam acidose metabólica com diminuição compensatória da pCO_2.

Síndrome hiperosmolar não-cetônica

Esta condição ocorre mais frequentemente em pacientes idosos com diabetes do tipo 2. A deficiência insulínica promove efeitos sobre o metabolismo dos carboidratos como na cetoacidose diabética, mas na forma menos severa, permitindo uma menor cetogênese. Além disso, pode existir comprometimento da função renal em pacientes idosos, levando a grandes perdas de água e eletrólitos. A hiperglicemia severa desenvolve desidratação profunda e osmolalidade bastante alta, mas sem cetose ou acidose. Esta condição apresenta-se com as seguintes características bioquímicas:

- Hiperglicemia (>500 mg/dL).
- Osmolalidade sérica bastante elevada: >320 mosmol/kg.
- Acidemia mínima ou ausente: pH sangüíneo >7,30 e bicarbonato plasmático >15 mmol/L.
- Cetonemia: negativa.

Os fatores precipitantes da síndrome hiperosmolar não-cetônica são os mesmos descritos para a cetoacidose diabética (v. acima).

Lactato sérico e no liquor

O ácido láctico, um intermediário no metabolismo dos carboidratos, é proveniente do músculo esquelético, cérebro e eritrócitos. A concentração de lactato sangüíneo é dependente da sua produção e degradação no fígado e rins. Ao redor de 30% do lactato formado é utilizado no fígado, predominantemente na gliconeogênese (ciclo de Cori) para a produção de glicose. Aumentos moderados na formação de lactato resultam no incremento da depuração do lactato hepático; no entanto, a captação fica saturada quando as concentrações excedem 2 mmol/L. Por exemplo, durante o exercício intenso, as concentrações de lactato podem aumentar significativamente - de uma média de 0,9 mmol/L para mais de 20 mmol/L em apenas 10 segundos. Não existe uniformidade quanto aos teores de lactato que caracterizam a acidose láctica. Níveis de lactato excedendo 5 mmol/L e pH sangüíneo <7,25 indicam acidose láctica.

A acidose láctica se apresenta em duas condições clínicas diversas:

Tipo A (hipóxica). Este é o tipo mais comum. Associada com *a redução de oxigenação tecidual (hipóxia)* encontrada em exercícios severos, convulsões, pobre perfusão tecidual (hipotensão, insuficiência cardíaca, parada cardíaca), conteúdo de oxigênio arterial reduzido (asfixia, hipoxemia, toxicidade pelo monóxido de carbono e anemia severa).

Tipo B (metabólica). Associada *com doença* (diabetes mellitus, neoplasmas, hapatopatia, acidose respiratória, insuficiência renal e sepse). *Drogas/toxinas/infusões* (etanol, metanol, salicilatos, nitroprussiato, fenformin, catecolaminas, frutose e sorbitol). *Acidose láctica congênita:* defeitos na gliconeogênese (deficiência de glicose 6-fosfatase ou piruvato carboxilase), no metabolismo do piruvato (deficiência da piruvato desidrogenase), fosforilação oxidativa mitocondrial.

O mecanismo da acidose láctica tipo B não é conhecido, mas acredita-se que o defeito primário seja o impedimento mitocondrial na utilização do oxigênio. Isto reduz os estoques de ATP e NAD^+, com acúmulo de NADH e H^+. Em presença de perfusão hepática reduzida ou enfermidade hepática, a remoção do lactato é diminuída provocando o agravamento da acidose láctica.

O teor de lactato no LCR normalmente varia de forma paralela aos encontrados no sangue. Em alterações bioquímicas no LCR, entretanto, o lactato altera de forma independente dos valores sangüíneos. Níveis aumentados no LCR são encontrados em acidentes cerebrovascular, hemorragia

intracraniana, meningite bacteriana, epilepsia e outras desordens do SNC. Na miningite asséptica (viral), os níveis de lactato no LCR não elevam.

Valores de referência: *no soro:* 5,5 a 22,0 mg/dL. *No liquor:* 11 a 19 mg/dL.

Na avaliação laboratorial da acidose láctica também são encontrados os seguintes resultados:

- Acidose metabólica: bicarbonato plasmático <20 mmol/L (pode chegar a 5 mmol/L).
- Lactato plasmático: bastante elevado.
- Hiperosfatemia.

DOENÇA RENAL

Ao redor de 10-25% dos pacientes tratados com doença renal terminal apresentam nefropatia diabética. Isto é provocado basicamente por doença dos pequenos vasos sangüíneos associada ao diabetes que se manifesta inicialmente pela proteinúria e síndrome nefrótica. Subsequentemente, a função renal declina com elevação da uréia e creatinina plasmática, eventualmente levando à insuficiência renal. A avaliação da concentração da microalbuminúria é útil para detectar esta desordem precocemente.

MICROALBUMINÚRIA

Microalbuminúria (pequenas quantidades de albumina e não pequenas moléculas) designa a excreção aumentada de albumina urinária não detectável pelas tiras reativas empregadas rotineiramente. É excretada em pequenas quantidades por diabéticos com nefropatia com redução da filtração glomerular. A determinação da microalbuminúria permite a detecção de complicações renais, permitindo o retardamento da evolução pela estabilização dos níveis de glicemia. É considerada importante quando se observa uma taxa de excreção de albumina (TEA) de 20 a 200 µg/min ou de 30 a 300 mg/d em dois terços das amostras durante seis meses.

A presença de microalbuminúria em diabéticos tipo 1 sugere maior risco de contrair nefropatia diabética. Nos diabéticos tipo 2, um teor de albumina >0,02 g/d é um fator de risco para acidentes cardiovasculares e infarto do miocárdio. A determinação da microalbuminúria é recomendada nos seguintes casos:

- Detectação precoce de nefropatia diabética.
- Monitoramento do diabetes gestacional.
- Monitoramento de gravidez de risco.

A urina empregada neste teste deve ser colhida por um período de 12 h ou 24 h com o paciente em repouso, pois ocorre um aumento significativo na TEA em diabéticos, após esforço ou exercícios exaustivos. Em geral, a microalbuminúria é determinada por métodos imunoturbidimétricos, nefelométricos ou de imunodifusão radial.

HIPERLIPIDEMIAS NO *DIABETES MELLITUS*

As anormalidades lipídicas associadas com o diabetes mellitus incluem:

- *Hipertrigliceridemia.* A deficiência insulínica inibe a enzima lipase lipoprotéica reduzindo a metabolização das VLDL. Além disso, ocorre aumento na síntese hepática das VLDL estimulada pela liberação de ácidos graxos (lipólise do tecido adiposo) parte dos quais, são convertidos em triglicerídios e VLDL no fígado.
- *Hipercolesterolemia.* O diabetes tipo 2 e a intolerância à glicose são comumente associados à hipercolesterolemia.

HIPOGLICEMIA

A hipoglicemia é uma condição médica aguda caracterizada pela concentração da glicose sangüínea abaixo dos limites encontrados no jejum (<50 mg/dL em adultos e <40 mg/dL em recém-

nascidos); no entanto é difícil definir limites específicos. Pode ocorrer redução em uma hora e meia a duas horas após uma refeição, sendo relativamente comum a obtenção de teores de glicose plasmática ao redor de 50 mg/dL no teste pós-prandial de duas horas. Mesmo em jejum, valores de glicose extremamente baixos, podem ocasionalmente ser encontrados sem sintomas ou evidências de alguma doença. As principais causas de hipoglicemia são:

Neonatais.

- Pequeno para a idade gestacional/prematuros.
- Síndrome do sofrimento respiratório.
- Diabetes mellitus materna.
- Toxemia da gravidez.
- Outras causas (ex.: estresse pelo frio, policitemia).

Crianças.

- Hipoglicemia cetônica.
- Defeitos enzimáticos congênitos (doenças do armazenamento do glicogênio, deficiência de enzimas gliconeogênicas, galactosemia, intolerância hereditária à frutose).
- Hipersensitividade à leucina.
- Hiperinsulinismo endógeno (nesidioblastose).
- Síndrome de Reye.
- Idiopática.

Adultos. A hipoglicemia em jejum é rara, mas sinaliza uma séria patologia subjacente.

- Medicações/toxinas: doses excessivas de insulina ou agentes hipoglicemiantes orais. Salicilatos e bloqueadores β-adrenérgicos.
- Excesso de etanol: pelo aumento da concentração de NADH citosólico reduzindo a gliconeogênese.
- Doenças hepáticas: cirrose portal severa, necrose hepática aguda e tumores hepáticos.
- Doenças endócrinas: insuficiência adrenocortical (doença de Addison), hipotireoidismo, hipopituitarismo (primário ou secundário), deficiência do hormônio de crescimento.
- Tumores pancreáticos produtores de insulina: *insulinomas* – geralmente um pequeno e solitário adenoma benigno das ilhotas pancreáticas, que secretam quantidades inapropriadas de insulina.
- Tumores não-pancreáticos (fibromas, sarcomas, hepatomas, carcinomas adrenais neoplasmas gastrointestinais, tumores carcinóides e mesoteliomas).
- Septicemia. É descrita em choques sépticos devido a infecções por gram-negativos.
- Insuficiência renal crônica. Pacientes urêmicos são propensos a desenvolver hipoglicemia por vários fatores: redução da inativação renal da insulina, diminuição da gliconeogênese renal, perda de proteínas resultando no baixo suprimento de alanina (precursor da gliconeogênese) e defeito na reabsorção da glicose.
- Hipoglicemia reativa – causada pela liberação exagerada de insulina após uma refeição; idiopática.
- Após refeições em pacientes submetidos à cirurgias gástricas.
- Desnutrição severa.
- Erros inatos do metabolismo (ex.: glicogenose do tipo I).

Manifestações clínicas da hipoglicemia. Não existem sintomas específicos para a hipogli-

cemia. Uma redução rápida da glicose plasmática a teores hipoglicêmicos geralmente desencadeia uma resposta simpática com liberação de adrenalina, que produz os sintomas clássicos da hipoglicemia: *fraqueza, suor, calafrios, náusea, pulso rápido, fome, tonturas* e *desconforto epigástrico*. Estes sinais não são específicos da hipoglicemia pois também são encontradas em outras condições, tais como: hipertireoidismo, feocromocitoma e ansiedade.

O cérebro é totalmente dependente da glicose sangüínea e *níveis muito baixos* da glicose plasmática (menos de 20 a 30 mg/dL) provocam disfunções severas do sistema nervoso central (SNC). Durante jejum prolongado ou hipoglicemia, os corpos cetônicos são utilizados como fonte de energia. Nestes casos, vários sintomas e sinais são encontrados, tais como: enxaqueca, confusão, letargia e perda de consciência. Estes sinais e sintomas são conhecidos como *neuroglicopenia.* A restauração da concentração da glicose plasmática, geralmente provoca uma pronta recuperação apesar de uma provável *lesão irreversível*. O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) *não* é um teste apropriado para avaliar pacientes suspeitos de hipoglicemia.

Determinação da glicose

Paciente. Deve permanecer em jejum por 12-14 horas. Caso seja diabético, não deve usar insulina ou hipoglicemiantes orais antes da coleta.

Amostra. *Soro, plasma, LCR* e *urina*. Quando o sangue for colhido sem conservantes e deixado a temperatura ambiente, as enzimas glicolíticas dos eritrócitos, leucócitos, plaquetas e de alguns contaminantes bacterianos reduzem os níveis de glicose na amostra em aproximadamente 5 a 7% por hora (5 a 10 mg/dL). Esta redução torna-se negligenciável quando:

- O plasma ou soro for separado em menos de 30 minutos após a coleta.
- Sangue coletado em tubos contendo *fluoreto de sódio* (2 mg por mL de sangue) – inibidor da enzima enolase da glicólise – ou de *iodoacetato de sódio* (2 mg por mL de sangue) – inibidor da gliceraldeído 3-P desidrogenase da glicólise.
- Por refrigeração da amostra. Em soro ou plasma refrigerado a glicose permanece estável por três dias.

As amostras de LCR estão muitas vezes contaminadas com bactériais ou outros constituintes celulares e devem ser analisadas imediatamente após a coleta ou centrifugadas e refrigeradas.

Em urinas de 24 h a glicose é preservada pela adição de 5 mL de ácido acético glacial ao frasco coletor antes do início da coleta. O pH final da urina permanece entre 4 e 5, o que inibe a atividade bacteriana. Mesmo com o uso de conservante, a urina também deve ser armazenada em refrigerador durante o período de coleta. Amostras de urina mantidas em temperatura ambiente podem perder até 40% de seu conteúdo de glicose após 24 horas.

Interferências. *Resultados falsamente elevados:* paracetamol, ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, ácido nalidíxico, ácido nicotínico, adrenalina, benzodiazepínicos, cafeína, carbonato de lítio, cimetidina, clonidina, cortisona, dopamina, esteróides anabólicos, estrogênios, etanol, fenitoína, furosemida, levodopa, tiazidas. *Resultados falsamente reduzidos:* alopurinol, anfetaminas, bloqueadores β-adrenérgicos, clofibrato, fenacitina, fenazopiridina, fenformina, hipoglicemiantes orais, insulina, isoniazida, maconha, nitrazepan e propranolol (em diabéticos).

Métodos. No passado, os métodos empregados para a determinação da glicose baseavam-se na capacidade redutora da mesma. Os oxidantes utilizados eram o cobre ou o íon ferricianeto em meio alcalino reduzidos pela glicose a íon cuproso e íon ferrocianeto, respectivamente. Os métodos mais populares, transformavam os íons cuprosos a óxido cuproso em presença de calor. O desenvolvimento de cor era conseguido pela redução do fosfomolibdato (Folin-Wu) ou arsenomolibdato (Somogyi-Nelson) para formar azul de molibdê-

nio. Estes métodos foram abandonados por sua complexidade e sofrerem ação de interferentes.

O-Toluidina. A determinação da glicose pela *o*-toluidina é a mais específica entre os métodos químicos; entretanto, o seu emprego tornou-se muito restrito depois que esta substância foi classificada como carcinogênica. A *o*-toluidina é uma amina aromática que condensa com o grupo aldeídico da glicose em solução de ácido acético a quente para formar uma mistura em equilíbrio de uma glicosilamina e a correspondente base de Schiff. Após rearranjos e reações, ocorre o desenvolvimento de cor verde-azulada cuja absorvância é medida em 630 nm. A *o*-toluidina reage com outras hexoses, como a galactose e a manose. As pentoses, como a xilose, reagem com a *o*-toluidina para formar cor laranja, com absorvância máxima em 480 nm.

O método da *o*-toluidina sofre interfe-rências da bilirrubina que, em teores elevados, apresenta valores falsamente aumentados de glicose já que pode ser parcialmente convertida no pigmento biliverdina de cor verde. A turvação na solução final como em presença de lipemia, causa resultados falsamente elevados.

Métodos enzimáticos. Empregam enzimas como reativos e são os mais utilizados atualmente em razão da grande especificidade pela glicose. Eles medem a glicose verdadeira e não os compostos redutores. São simples e rápidos de executar, além de necessitar pequenos volumes de amostra. Os dois sistemas enzimáticos mais empregados são: glicose oxidase, hexoquinase e glicose desidrogenase.

Glicose oxidase. É altamente específica para a β-glicose. Em presença do oxigênio, a enzima converte a β-glicose a ácido glicônico e peróxido de oxigênio. Em uma segunda reação, a enzima peroxidase decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Este último oxida – em presença da peroxidase – um cromogênio aceptor de oxigênio (como o *o*-dianosidina) para formar um produto colorido lido fotometricamente. Elevadas concentrações de ácido úrico, bilirrubina ou ácido ascórbico inibem a segunda reação por competição do cromogênio pelo H_2O_2 produzindo falsos resultados reduzidos. Muitas destas interferências são eliminadas pelo uso de 4-aminofenazona (método de Trinder).

A concentração de glicose também é determinada por *polarografia*. Este método emprega um eletrôdo de O_2 e glicose oxidase produzindo ácido glicônico e peróxido de hidrogênio a partir da glicose. A catalase desdobra o peróxido de hidrogênio. A quantidade de O_2 consumido é medida pelo eletrôdo de O_2 e está diretamente relacionada aos teores de glicose nas amostras.

O método de glicose oxidase foi adaptado para uma grande gama de instrumentos automatizados. No sistema de reativo seco *DT Vitros* a glicose oxidase está presente em um filme de múltiplas camadas associado a um indicador similar ao empregado pelo método de Trinder. A intensidade da cor final é medida através da redução da transparênica do filme por espectrofotometria de reflexão.

Hexoquinase. O emprego da hexoquinase apresenta algumas vantagens sobre a glicose oxidase e é adotada em alguns países como o método de referência para a determinação de glicose. Este método consiste de duas reações acopladas: (a) a glicose é fosforilada pelo ATP pela ação da hexoquinase; (b) a glicose 6-fosfato resultante é convertida pela glicose 6-fosfato desidrogenase, na presença de $NADP^+$, em 6-fosfogliconolactona e NADPH. O NADPH formado é proporcional à quantidade de glicose na amostra e é medido em 340 nm. Apesar da hexoquinase também fosforilar outras hexoses, esses carboidratos não estão presentes em concentrações suficientemente altas nas amostras para interferir. A hemólise interfere com o sistema hexoquinase pois os eritrócitos contém glicose 6-P desidrogenase e 6-fosfogliconato desidrogenase que empregam $NADP^+$ como substrato.

Glicose desidrogenase. A glicose desidro-genase catalisa a redução de NAD^+, produzindo gliconolactona e NADH que pode ser monitorado em 340 nm. Sofre interferências da D-xilose e da manose, que raramente são encontradas em teores significativos.

HEMOGLOBINA GLICADA

Em adultos, os eritrócitos normais contém hemoglobina A (97% do total), HbA_2 (2,5%) e HbF (0,5%). Por diferentes métodos eletroforéticos e cromatográficos, foram detectadas sub-frações da hemoglobina A, identificadas como HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c} e, coletivamente, denominadas *hemoglobinas glicadas* (*hemoglobinas glicosiladas* ou *glico-hemoglobinas*). A fração HbA_{1c} constitui, aproximadamente 80% da HbA. As hemoglobinas glicadas são obtidas pela adição espontânea de glicose ao grupo amino livre das proteínas hemoglobínicas por reações *não-enzimáticas*. Os conteúdos destas sub-frações aumentam com a idade dos eritrócitos.

O estudo destas hemoglobinas é realizado, principalmente, pela medida da sub-fração HbA_{1c} em pacientes com diabetes mellitus. Esta avaliação indica o controle metabólico do paciente nas *8 a 10 semanas* precedentes ao teste, enquanto a glicose sangüínea reflete o controle somente das 24 horas anteriores. A HbA_{1c} é monitorada a cada três ou quatro meses em diabéticos estáveis e, em cada um ou dois meses, em diabéticos com pobre controle glicêmico. Grávidas diabéticas (especialmente do tipo 1) são avaliadas uma a duas vezes ao mês para um controle mais efetivo. A terapêutica insulínica é ajustada nos pacientes diabéticos se a hemoglobina glicada ultrapassar 10%. Na monitoração de diabéticos, variações de 2% entre duas avaliações, é considerada clinicamente significante e indicativa de um melhor ou pior controle glicêmico.

Este teste não é adequado para o acompanhamento de pacientes diabéticos portadores de hemoglobinopatias, pois a presença de variantes da hemoglobina provocam redução da meia-vida das hemáciais e, portanto, do tempo de exposição da hemoglobina às variações dos teores de glicose circulante, diminuindo o percentual de hemoglobina glicada. Nestes casos é recomendado o acompanhamento destes pacientes pela dosagem da fructosamina.

DETERMINAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA

Paciente. Não necessita jejum para a coleta.

Amostra. Sangue total colhido em tubo contendo EDTA, oxalato de potássio-fluoreto de sódio. O sangue pode ser armazenado em refrigerador por uma semana. Amostras heparinizadas devem ser ensaiadas no máximo em dois dias.

Métodos. A hemoglobina glicada é determinada por três categorias de métodos baseados no modo como os componentes glicados e não-glicados são separados. São separados de acordo com: (a) diferenças de carga (cromatografia de troca iônica, cromatografia líquida de alta execução, eletroforese, focalização isoelétrica), (b) reatividade química (colorimetria e espectrofotometria) e (c) diferenças estruturais (cromatografia por afinidade e imunoensaio).

Microcolunas. A HbA_{1c} é determinada, fundamentalmente, por cromatografia por afinidade. Neste método, a amostra é aplicada a uma coluna trocadora de íons e os subcomponentes glicados eluídos com um tampão de baixa força iônica. As hemoglobinas restantes são, então, eluídas com tampão de alta força iônica. As frações são quantificadas em espectrofotometria (em 415 nm). Este método é afetado por variações na temperatura, mas apresenta boa precisão. As variantes da hemoglobina como HbF, HbS ou HbC desenvolvem interferência mínima.

Eletroforese. A separação eletroforética da hemoglobina A_1 está baseada na capacidade do N-terminal livre da hemoglobina não-glicada em interagir com grupos carregados negativamente.

Valores de referência: estão entre 5 a 8% da HbA total em indivíduos normais e variam entre 8 a 30% em pacientes com diabetes, dependendo do grau de controle de glicemia.

FRUCTOSAMINA

É o nome genérico de proteínas cetoaminas. É análoga a hemoglobina glicada e com meia-vida ao redor de 2 a 3 semanas, o que a torna de grande utilidade no monitoramento a curto prazo como um índice de controle glicêmico do diabético, particularmente em pacientes portadores de hemoglobinopatias, por não sofrer interferências de variantes das hemoglobinas. O ácido ascórbico exerce interferência positiva sobre o teste.

O teste é sensível à variações nos teores das proteínas séricas, isto é, pacientes exclusivamente nutridos por via parenteral apresentam nítidas variações na concentração da fructosamina, apesar de glicemia normal estável. Há um aumento de 1,3% da fructosamina plasmática para cada 0,3 g/dL de aumento nos teores de proteinemia. Estados hipoproteinêmicos (albumina sérica <3,0 g/dL) podem produzir resultados falsamente baixos para os níveis de fructosamina sérica.

Valores de referência: 1,8 a 2,8 mmol/L.

ERROS INATOS DO METABOLISMO

DOENÇAS DO ARMAZENAMENTO DO GLICOGÊNIO

O glicogênio é sintetizado e armazenado principalmente no fígado e músculo. As doenças do armazenamento são erros inatos raros do metabolismo dos carboidratos provocados pela deficiência ou redução na atividade de uma ou mais das muitas enzimas envolvidas.

Uma das características deste grupo de doenças é a anormalidade no armazenamento do glicogênio, geralmente em quantidades aumentadas e, as vezes, com estrutura anormal. Pode ocorrer também hipoglicemia, alterações dos lipídios sangüíneos, hiperuricemia e acidose láctica.

A mais comum das doenças do armazenamento do glicogênio é a *Cori tipo IV*, devido a deficiência da fosforilase quinase. Glicogênio com estrutura normal acumula, fundamentalmente, no fígado e músculo. A doença de *von Gierke* (Cori tipo I) é provocada pela deficiência de glicose 6-fosfatase; o glicogênio acumulado no fígado, rins e intestino também apresenta estrutura normal. Pode também desenvolver hipoglicemia profunda.

GALACTOSEMIA

O fígado é o principal local de conversão da galactose em glicose. Três defeitos genéticos que alteram o metabolismo da galactose são descritos: (a) deficiência das enzimas UDP-glicose:galactose 1-fosfato uridiltransferase, (b) galactoquinase ou (c) UDP-galactose 4-epimerase. Estes defeitos causam o aumento da galactose sérica e urinária.

A galactosemia é uma doença rara (2 para cada 100.000 nascimentos). O defeito mais comum e mais severo é motivado pela deficiência UDP-glicose:galactose 1-fosfato uridiltransferase, que se manifesta no período neonatal ou primeira infância por vômitos acompanhados de hipoglicemia.

A deficiência de galactoquinase não se manifesta clinicamente no período neonatal e pode não ser diagnosticada até o desenvolvimento de catarata.

Crianças com testes positivos para substâncias redutoras na urina devem ser submetidas à análise destes compostos na urina por cromatografia. Caso forem identificadas, a galactose e a galactose 1-fosfato devem ser medidas no soro. A confirmação do diagnóstico é obtida pela medida das atividades de enzimas eritrocitárias.

GLICOSÚRIA: CAUSAS VARIADAS

Várias condições promovem glicosúria pela presença de substâncias diferentes da glicose na urina.

Intolerância hereditária à frutose. O fígado é o principal sítio de conversão da frutose em glicose. A deficiência da frutose 1-fosfato aldolase causa o acúmulo intracelular da frutose 1-fosfato. Vômitos e hipoglicemia ocorrem após a ingestão de alimentos contendo frutose, geralmente a sacarose. A idade do aparecimento da anormalidade depende do tipo de alimentação e da severidade do defeito. A maioria dos pacientes desenvolvem uma forte aversão à sacarose. O teste de tolerância à frutose é empregado nesta investigação. Pacientes com esta deficiência mostram pronunciada e prolongada redução dos teores de glicose e fosfato após a administração de frutose. Também apresentam frutosúria. A cromatografia urinária confirma a presença de frutose.

Frutosúria essencial. É uma condição benigna originada pela deficiência de frutoquinase.

Pentosúria essencial. É um erro inato benigno do metabolismo no qual o açúcar L-xilulose é excretado em excesso na urina. Isto se deve a um defeito na NADP-ligada xilitol desidrogenase, uma das enzimas da via de oxidação do ácido glicurônico.

Lactosúria. Não apresenta significância patológica. Encontra-se muitas vezes nos últimos estágios da gravidez e durante a lactação após o parto. Muitas vezes é necessário distinguir a lactosúria da glicosúria.

Bibliografia consultada

Bioinforme 96. Laboratório Sérgio Franco. Rio de Janeiro : Faulhaber, 1996

CHAN, A. Y. W., SWAMINATHAN, R., COCKRAM, C.S. Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose blood. **Clin. Chem., 35:**315-7, 1989.

COHEN, Margo P., COHEN, Jonathan. **Diabetes and protein glication: clinical and pathophysioloic relevance.** New York : P. C. Press, 1996. 275 p.

CURME, H. G., COLUMBUS, R.L., DAPPEN, G.M. et al. Multilayer film elements for clinical analysis: general concepts. **Clin. Chem., 24:**1335-42, 1978.

DUBOWSKI, K. M. An o-toluidine method for body-fluid glucose determination. **Clin. Chem., 8:**215-35, 1962.

FOLIN, O., WU, H. A system of blood analysis. A simplified and improved method for determination of sugar. **J. Biol. Chem., 41:**367-74, 1920.

GOLDSTEIN, D. E., LITTLE, R. R., WIEDMEYER, H. M. et al. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. **Clin. Chem., 32:**B64-B70, 1986.

KITABCHI, A. E., WALL, B. M. Diabetic ketoacidosis. **Med. Clinics North Am., 79:**9-37, 1995.

KUHN, F. M. Diabetes mellitus: novos critérios de classificação e diagnóstico. **Rev. Cient. AMECS, 6:**223-6, 1997.

LIM, Y. S., STALEY, M. J. Measurement of plasma fructosamine evalueted for monitoring diabetes. **Clin. Chem., 31:**731-3, 1985.

LORBER, D. Nonketonic hypertonicity. **Med. Clinics North Am., 79:**39-52, 1995.

NELSON, N. Photometric adaptation of the Somogyi method for he determination of glucose. **J. Biol. Chem., 153:**375-80, 1944.

Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabete Mellitus. **Diabetes Care, 20:**1183-97, 1997.

SANNAZZARO, C. A. C., COELHO, L. T. Nefropatia diabética e proteinúria. **LAES & HAES, 120:**146-52, 1999.

SERVICE, F. J. Hipoglycemia. **Med. Clinics North Am., 79:**1-8, 1995.

SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **J. Biol. Chem., 160:**19-23, 1952.

STERN, H. J. Lactic acidosis in paediatrics: clinical and laboratory evaluation. **Ann. Clin. Biochem., 31:**410-9, 1994.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with na alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem., 6:**24-7, 1969.