

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CICERA MARIANA SIEBRA SILVA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DA NIACINAMIDA (VITAMINA
B3) NA DETERMINAÇÃO SÉRICA DA GLICOSE, COLESTEROL E
TRIGLICERÍDEOS**

JUAZEIRO DO NORTE – CE
2018

CICERA MARIANA SIEBRA SILVA

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DA NIACINAMIDA (VITAMINA B3) NA DETERMINAÇÃO SÉRICA DA GLICOSE, COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Ma. Helenicy Nogueira Holanda Veras.

CICERA MARIANA SIEBRA SILVA

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DA NIACINAMIDA (VITAMINA B3) NA DETERMINAÇÃO SÉRICA DA GLICOSE, COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Ma. Helenicy Nogueira Holanda Veras.

Data de aprovação: 03/12/18

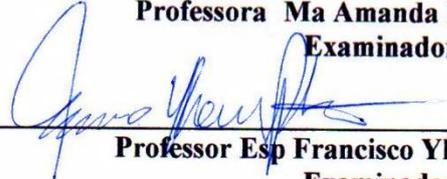
BANCA EXAMINADORA



Professora Ma. Helenicy Nogueira Holanda Veras
Orientador



Professora Ma Amanda Karine de Sousa
Examinador 1



Professor Esp Francisco Yhan Pinto Bezerra
Examinador 2

AValiação DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DA NIACINAMIDA (VITAMINA B3) NA DETERMINAÇÃO SÉRICA DA GLICOSE, COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS

¹Cicera Mariana Siebra Silva.

²Helenicy Nogueira Holanda Veras.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a possível interferência da niacinamida em exames laboratoriais de rotina como glicose, colesterol total e triglicérido. A niacinamida foi obtida junto a Farmácia de manipulação Magistral[®] localizada em Juazeiro do Norte, CE. As amostras biológicas (soro e plasma) de pacientes saudáveis foram fornecidas pelo Laboratório de Análises Clínicas da Clínica Escola do Centro Universitário Leão Sampaio. Foram adicionadas ao soro ou plasma 2mg/dL e 4mg/dL de niacinamida. A determinação dos analitos bioquímicos foi realizada nos intervalos de 30, 60 e 120 minutos após a adição da niacinamida, em triplicata, pelo método enzimático colorimétrico (reação de Trinder) seguindo as instruções do fabricante (Labtest[®]). Ao final dos testes observou-se interferência *in vitro* negativa da niacinamida em todas as análises realizadas. Os valores obtidos foram significativos ($p < 0,05$) quando comparados com o controle de cada teste, tendo a maior variação de interferência para o teste de triglicérido. Diante dos resultados perfaz-se que a niacinamida inibiu *in vitro* as reações dos analitos estudados de forma significativa a partir de 30 minutos de contato com a amostra, seja na concentração de 2mg/dL ou 4mg/dL.

Palavras-chave: Colesterol. Glicose. Interferência *in vitro*. Niacinamida. Triglicéridos.

EVALUATION OF *IN VITRO* INTERFERENCE OF NIACINAMIDE (VITAMIN B3) IN SERUM DETERMINATION OF GLUCOSE, CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDES.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the possible interference of niacinamide in routine laboratory tests such as glucose, total cholesterol and triglyceride. Niacinamide was obtained from the Magistral[®] Handling Pharmacy located in Juazeiro do Norte, CE. Biological samples (serum and plasma) from healthy patients were provided by the Laboratory of Clinical Analysis of Clinical School of the University Center Leão Sampaio. Serum or plasma 2mg / dL and 4mg / dL of niacinamide were added to the serum or plasma. The determination of the biochemical analytes was carried out at the intervals of 30, 60 and 120 minutes after the addition of niacinamide in triplicate by the colorimetric enzymatic method (Trinder reaction) following the manufacturer's instructions (Labtest[®]). At the end of the tests, negative *in vitro* interference of niacinamide was observed in all analyzes. The values obtained were significant ($p < 0.05$) when compared to the control of each test, with the highest interference variation for the triglyceride test. In view of the results, niacinamide inhibited *in vitro* the reactions of the analytes studied significantly after 30 minutes of contact with the sample, either at the concentration of 2mg / dL or 4mg / dL.

Keywords: Cholesterol. Glucose. Interference *in vitro*. Niacinamide. Triglycerides.

¹Aluna do curso de graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, silva.mari1939@gmail.com.

²Orientadora professora mestre do curso de graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, helenicy@leaosampaio.edu.br.

INTRODUÇÃO

Os exames laboratoriais são de grande importância para prevenção e diagnóstico de doenças, auxiliando no tratamento de determinadas patologias além de fazer o acompanhamento dos pacientes verificando a eficácia da terapia medicamentosa (MOURA, 2014).

Existe uma grande preocupação com relação à exatidão dos exames laboratoriais, pois cada vez mais é notável o avanço tecnológico e automação das máquinas no ambiente laboratorial enriquecendo técnicas e metodologias. Contudo, estudos nessa área pesquisam o aumento da sensibilidade e especificidade, procurando fazer testes cada vez mais rápidos, de baixo custo e precisos (GIACOMELLI; PEDRAZZI, 2001).

As interferências em exames laboratoriais são várias, podendo se agrupar em interferentes endógenos (bilirrubina, lipídeos, proteínas plasmáticas) e exógenos (medicamentos, vitaminas, plantas medicinais). Ambos alteram resultados laboratoriais de forma negativa ou positiva. Interferentes que agem de forma positiva irão aumentar os valores para além do valor real de concentração, enquanto a negativa tem ação inversa (FERREIRA et al, 2009).

Os fármacos que podem agir provocando efeitos *in vivo* e *in vitro*, seja individualmente ou simultaneamente, em testes laboratoriais. Quando um medicamento leva a mudança dos parâmetros biológicos por meio de um mecanismo fisiológico ou farmacológico recebe o nome de interferência *in vivo*, quando interagem com substâncias presentes em reagentes utilizados, resultando um falso positivo chamamos de interferência *in vitro* (MOTTA, 2003).

A niacinamida é a forma amida da vitamina B3, apresenta-se como vitamina hidrossolúvel referente ao grupo das vitaminas do complexo B (MARIA; MOREIRA, 2011). É essencial na alimentação e está contida em diversos gêneros alimentícios, como hortaliças, frutas, legumes, carnes e em grãos. Por estar presente na nossa alimentação rotineiramente é interessante do ponto científico conhecer o efeito *in vitro* que ela pode exercer nos exames de glicose, colesterol total e triglicérides, provocando assim possíveis erros em exames laboratoriais (MOTTA, 2009).

Desta forma é de suma importância que os fármacos e vitaminas utilizados pelo paciente sejam protocolados durante o cadastro na recepção do laboratório para minimizar resultados equivocados, que induzam os médicos e analistas clínicos a erros na interpretação

dos valores encontrados. Visto a escassez de trabalhos sobre esse tema irá enriquecer ainda mais o conhecimento acadêmico de âmbito geral. Diante disso, o presente trabalho teve como objeto avaliar a possível interferência *in vitro* da niacinamida em exames laboratoriais de rotina, como glicose, colesterol total e triglicerídeos.

MATERIAIS E MÉTODOS

DELINEAMENTO DO ESTUDO E LOCAL DE EXECUÇÃO DOS TESTES

Tratou de um estudo experimental, que foi realizado no Laboratório de Bioquímica do Centro Universitário Leão Sampaio, localizado na cidade de Juazeiro do Norte – CE.

OBTENÇÃO DA SUBSTÂNCIA, AMOSTRAS BIOLÓGICAS E EXECUÇÃO DOS TESTES ENZIMÁTICOS.

A niacinamida foi obtida junto a Farmácia de manipulação Magistral[®] localizada na Rua São Francisco nº 427, centro de Juazeiro do Norte- CE. As amostras biológicas (soro e plasma flouretado) foram fornecidas pelo Laboratório de Análises Clínicas da Clínica Escola do Centro Universitário Leão Sampaio.

Para execução dos testes foi feito o *pool* de amostras biológicas utilizando 500 µL de cada soro ou plasma de pacientes com valores de referência normais para os analitos de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2017) e Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da aterosclerose (2017). Os critérios de rejeição para amostras de soro foram: presença de lipemia, hemólise, volume inferior a 500µL e suplementação com niacinamida pelo paciente, sendo este último critério informado na recepção do laboratório responsável no momento do cadastro.

Foram adicionadas ao soro concentrações da niacinamida obtendo uma concentração final de 2mg/dL e 4mg/dL, considerando que as pessoas ingerem normalmente 100 mg e 200 mg por dia (GUARNIRI, HATHCOCK, MACKAY, 2012). As determinações dos parâmetros bioquímicos foram feitas nos intervalos de 30, 60 e 120 minutos após a adição das substâncias, em triplicata, utilizando o método enzimático colorimétrico (reação de Trinder) seguindo as instruções do fabricante (Labtest[®]) (MARTINELLO; SILVA, 2003; MOURA et al., 2017).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram expressos em média \pm desvio padrão (DP) e submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguindo-se do teste de Tukey e Bonferroni, utilizando o programa *GraphPad Prism 5.0*. As diferenças foram consideradas significativas quando os valores de $p < 0,05$.

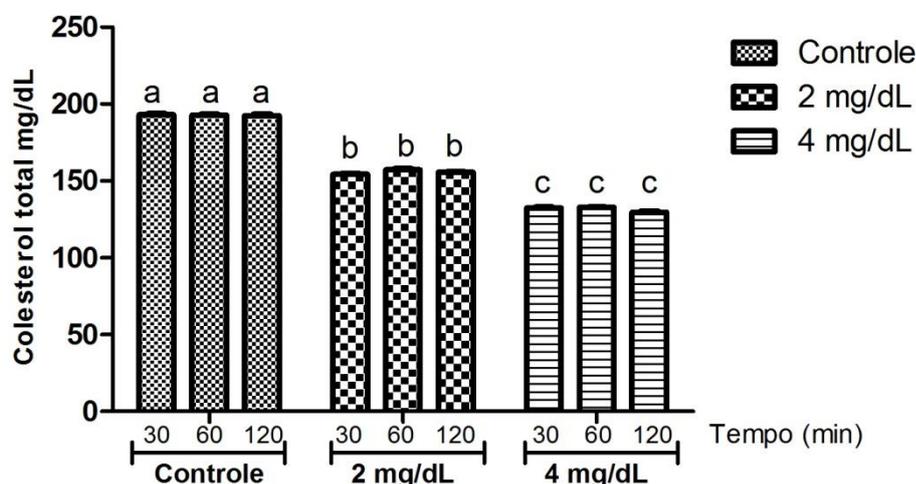
ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O estudo foi submetido à avaliação da Plataforma Brasil e pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro Universitário Leão Sampaio e aprovado com número de parecer 3.067.207. Em total obediência ao disposto na Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, as informações dos pacientes foram mantidas em sigilo (BRASIL, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico 1 apresenta a análise estatística feita com os valores encontrados após dosagem de colesterol. A média dos controles foi de 193 mg/dL para todos os tempos analisados. Na concentração de 4mg/dL, nos tempos de 30, 60 e 120 minutos não houve diferença significativas entres os tempos analisados, porém houve diferença com relação ao valor controle. A média dos valores observados foi de 132mg/dL, obtendo em 30 minutos foi de 132mg/dL, em 60 minutos de 133mg/ dL e em 120 minutos foi de 130mg/ dL. Desta forma a niacianamida interferiu diminuindo o valor do colesterol com o passar do tempo quando comparado estatisticamente.

Gráfico 01: Colesterol total (mg/dL) determinado após 30, 60 e 120 minutos da adição da niacinamida nos *pools* de soro.



Controle: Soro sem adição da Niacinamida. Médias dos tratamentos (30, 60 e 120 minutos após a adição da Niacinamida) seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si. Médias dos tratamentos seguidas de letras diferentes diferem significativamente quando comparados entre si e entre os respectivos controles (n = 3, p <0.001 vs controle - ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni).

Não existem na literatura até o ano da presente pesquisa dados sobre a interferência *in vitro* da niacinamida em parâmetros bioquímicos. No entanto, já é documentado que a presença de vitaminas antioxidantes como a vitamina C altera a concentração sérica de vários analitos, como no estudo de Moura e colaboradores (2017) que verificaram a interferência da vitamina C nos parâmetros de ureia e creatinina.

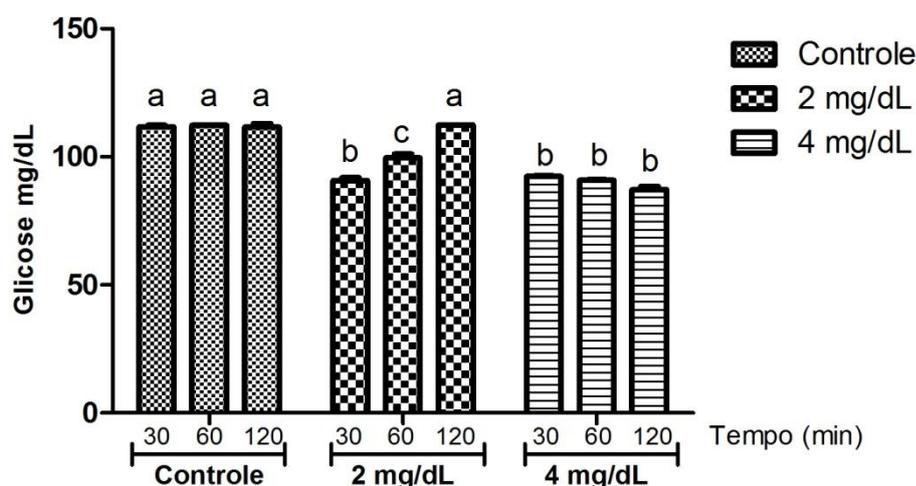
Da mesma forma, Martinello et al. (2003) explicam que vitaminas antioxidantes como a vitamina C e B3 (Niacinamida) são conhecidas na literatura por interferir em reações bioquímicas que estão presentes nos sistemas indicadores com oxidases e peroxidases, como a reação de Trinder que é utilizada na quantificação de componentes séricos como glicose, colesterol, triglicerídeos e ácidos úrico, podendo interferir também na determinação de bilirrubina, creatina, fósforo, ureia e enzimas aminotransferases, entre outras.

É importante ressaltar que o analista clínico e os profissionais que interpretam os exames devem entender quais os interferentes laboratoriais. Os possíveis medicamentos interferentes para determinação do colesterol total são: cloridrato de metformina, furosemida e anticoncepcionais orais, pois podem provocar o aumento da concentração de colesterol total.

O gráfico 2 apresenta a análise dos valores de glicose, que apresentou um controle de 112,1mg/dL, nos três tempos determinados. Após adição de 2mg da vitamina houve

diferença entre os tempos observados, em 30 minutos, obteve-se 90mg/dL, em 60 minutos, 100,8mg/dL e em 120 minutos, 112,4mg/dL, desta forma observou-se o aumento com o passar do tempo. Na concentração de 4mg os valores permaneceram iguais a partir da média entre si, tendo diferença com relação ao valor controle.

Gráfico 2: Glicose plasmática (mg/dL \pm desvio padrão) determinado após 30, 60 e 120 minutos da adição da niacinamida nos *pools* de plasma fluoretado.



Controle: Soro sem adição da Niacinamida. Médias dos tratamentos (30, 60 e 120 minutos após a adição da Niacinamida) seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si. Médias dos tratamentos seguidas de letras diferentes diferem significativamente quando comparados entre si e entre os respectivos controles (n = 3, p <0.001 vs controle - ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni).

De acordo com Andrade e Barbosa (2008), existem alguns fatores interferentes para determinação da glicemia, tais como: prática de exercícios físicos antes da coleta de sangue, estresse, ingestão de álcool e de substâncias como ácido ascórbico, já citado anteriormente, e quando comparado as interferências que o teste da glicose apresentou, após a adição da substância antioxidante niacinamida, ou seja, tem o mesmo princípio do ácido ascórbico, foi possível ver interferentes. Para se submeter ao teste é necessário permanecer em estado de jejum pelo menos por 8 horas, além de interromper o uso de medicamentos que venham a interferir no metabolismo dos carboidratos. Martinello e Silva (2003) apresentam que megadoses de ácido ascórbico podem causar interferência não só na glicose, como em outros parâmetros como ácido úrico e triglicerídeos principalmente.

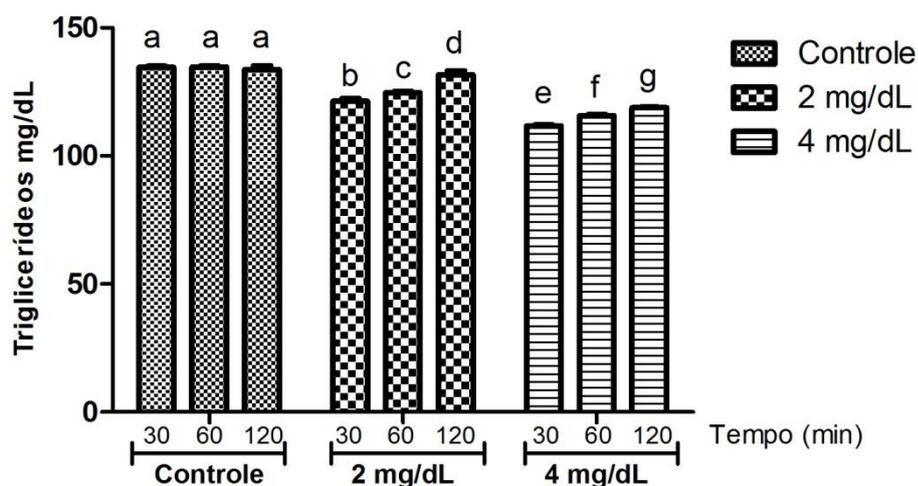
Estudo realizado em um laboratório clínico na cidade de Juazeiro do Norte (CE) evidenciou que os principais fármacos relatados pelos pacientes no momento do cadastro dos exames foram: Losartana, Hidroclorotiazida, Metformina, Captopril e Levoid. Destes, a literatura relata que a Metformina e hidroclorotiazida interferem na concentração de glicose

plasmática sem um mecanismo totalmente elucidado. Os autores sugeriram a criação de um banco de dados para agrupar informações sobre a interferência dos medicamentos nas análises bioquímicas facilitando assim a interpretação dos laudos (FELIX, BEZERRA E VERAS, 2015).

Por outro lado, plantas medicinais também podem causar falsos resultados em análises laboratoriais. Santos et. al (2018) demonstraram que o extrato aquoso das folhas de *Lippia sidoides* (alecrim pimenta) apresentam iridóides glicosilados como metabólitos secundários, sendo eles os possíveis causadores da interferência nos valores de glicemia plasmática. Na concentração de 10 mg/dL dos extratos houve um aumento significativo no nível de glicose em mais de 200% do valor quando comparados ao controle.

O gráfico 3 apresenta a análise gráfica dos valores referentes ao teste de triglicerídeos, com um controle de 135mg/dL, nos três tempos observados. Após adição de 2mg da vitamina, houve diferença entre os valores obtidos, em 30 minutos obteve-se 120mg/dL, em 60 minutos, 125mg/dL e em 120 minutos, 130 mg/dL. Já na concentração de 4mg houve uma maior diferença quando correlacionada ao valor controle, no tempo de 30 minutos obteve 112mg/dL, em 60 minutos, 116mg/dL e em 120 minutos, 110mg/dL. O teste apresentou uma diferença significativa comparado com os demais, quando comparado ao valor controle.

Gráfico 3: Triglicerídeos (mg/dL \pm desvio padrão) determinado após 30, 60 e 120 minutos da adição da niacinamida nos *pools* de soro.



Controle: Soro sem adição da Niacinamida. Médias dos tratamentos (30, 60 e 120 minutos após a adição da Niacinamida) seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si. Médias dos tratamentos seguidas de letras diferentes diferem significativamente quando comparados entre si e entre os respectivos controles (n = 3, p <0.001 vs controle - ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni).

Miller et al (2011) afirma que a dosagem de triglicerídeos no sangue é feita com a finalidade de avaliar o risco de doença cardiovascular, como parte do perfil lipídico, além da determinação ser necessária para cálculo das frações do colesterol. Contudo, há medicamentos que interferem na dosagem do triglicerídeo como: anticoagulantes, metronidazol, atenolol entre outros.

Brasil (2014) relata que o medicamento cloridrato de metformina pode ocasionar um resultado falso positivo em teste como o da cetona urinária, não excluindo a diminuição das concentrações séricas do colesterol total, triglicerídeos e LDL. Aumentando o HDL e o lactato plasmático.

CONCLUSÃO

Conclui-se que houve interferência *in vitro* de forma significativa nos três testes realizados observados a partir dos 30 minutos que a niacinamida estava em contato com o *pool* de soro e plasma, e permaneceu até 120 minutos após realização dos testes.

Este trabalho é de grande importância para conhecimento da população acadêmica em geral, principalmente da área de análises clínicas, visto que não existe na literatura trabalhos sobre o potencial de interferência da niacinamida em exames bioquímicos. Desta forma, é de suma importância a anamnese no momento do cadastro do paciente no laboratório clínico, perguntando ao paciente se o mesmo faz uso de algum suplemento vitamínico, a fim de diminuir interferentes e laudos com resultados equivocados. Nesse sentido, mais estudos serão necessários para elucidar o mecanismo de interferência bem como a realização de estudos *in vivo*.

REFERÊNCIAS

BONETTI, C. I., MAFFINI, S., OLIVEIRA, C. L., Estudo da interferência de medicamentos em exames laboratoriais, Congresso de ciências farmacêuticas do Mercosul, 6., 2016, Cascavel-Paraná, Anais, Cascavel: **Unioeste**, 2016.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Conceitos Técnicos**. Brasília, 2014.

BRASIL. Resolução Nº 466, DE 12 De Dezembro De 2012. **Comitê de ética**, 2012.

FALUDI, A. A. et al., Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Sociedade brasileira de cardiologia**. V.109, n.2, 2017.

- FELIX, J. T., BEZERRA, L. D. C., VERAS, H. N. H, Estudo dos fármacos utilizados por pacientes atendidos em um laboratório clínico e as possíveis alterações em exames laboratoriais. **Revista e-ciencia**. v.3, n.01, 2015
- FERREIRA, B. C. et al., Estudo dos medicamentos utilizados pelos pacientes atendidos em laboratórios de análises clínicas e suas interferências em teses laboratoriais: uma revisão da literatura. **Rev. Eletr. Farm.** v.6, n.1, 2009.
- GIACOMELLI, L. R. B., PEDRAZZI A. H. P., Interferência dos Medicamentos nas Provas Laboratoriais de Função Renal. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**. v.5, n.1, 2001;
- GUARNERI, E., HATHCOCK, J., MACKAY, D., Niacin: chemical forms, bioavailability, and health effects, **Nutritionin Clinical Care**, v. 70, n. 5, 2012.
- GUDER, W. et al., The haemolytic, icteric and lipemic sample recommendations regarding their recognition and prevention of clinically relevant interferences. **Laboratoriums Medizin/Journal of laboratory Medicine**, v. 24, n. 8, 2009.
- GUIMARÃES, A. C., et al. **Hospital de clínicas de Porto Alegre**. V.31, n.66, 2011.
- MARIA. C. A. B., MOREIRA. R. F. A., A intrigante bioquímica da niacina- Uma revisão crítica, **Química nova**, v. 34, n. 10, 2011.
- MARTINELLO, F.; SILVA, E. L., Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos in vivo e in vitro. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, 2003.
- MILLER, M. et al., **Triglycerides and Cardiovascular Disease**. Circulation. v.123. n.20, 2011.
- MOTTA, V. T., Bioquímica Clínica Para o Laboratório **Princípios e Interpretações**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003.
- MOTTA, V. T., Bioquímica Clínica Para o Laboratório: **Princípios e Interpretações**, 5ª edição, Medbook, 2009.
- MOURA, F. H. de R. et al., Estudo *in vitro* do efeito do ácido ascórbico sobre os parâmetros de ureia e creatinina. v. 49, n. 3, 2017.
- MOURA, J. A. P., **Interferência De Medicamentos Em Exames Laboratoriais**. 2014. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal de Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2014.
- OLIVEIRA, P. O., JUNIOR, R. M. M., VENCIO, S., Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes. **Editora Clannad**. São Paulo, 2017.

SANTOS H. G. et al., Avaliação da interferência *in vitro* do extrato aquoso de *Lippia sidoides* Cham. Na determinação do de glicemia plasmática. **Infarma ciências farmacêuticas**. v. 30, n.3, 2018.