



Ano II, Volume II, Numero I
Janeiro – Junho de 2011

ANÁLISE DA SALICILEMIA PELO MÉTODO DE TRINDER EM PACIENTES CARDIOPATAS NO HUAC

Pierre Vansant Oliveira Eugenio¹, Luana Pinto de Arruda Sales², Saulo Rios Mariz³.

RESUMO

Apresenta-se um estudo clinico laboratorial prospectivo, que objetiva analisar os níveis de salicilatos presentes no soro de pacientes portadores de afecções cardiovasculares sob tratamento prolongado com ácido acetil salicílico (AAS) para prevenção de eventos tromboembólicos. Nessa perspectiva, e baseados nos valores de referência de salicilemia, utilizamos o método colorimétrico de TRINDER (1954) para determinação da salicilemia. Observou-se correlação entre as doses ingeridas de AAS e os valores encontrados de absorbância, Os quais apresentaram pequena variância ao se comparar diferentes amostras de pacientes sob uma mesma posologia de AAS. Estes resultados evidenciam que o método é capaz de avaliar a adesão ao tratamento e indicar necessidade de reajustes posológicos que resultarão em otimização do tratamento e promoção do uso racional do medicamento.

Palavras-Chaves: salicilatos; dosagem; prevenção; cardiopatias.

SALICILEMIA ANALYSIS BY TRINDER LABORATY METHOD IN PATIENTS WITH HEAR DISEASE IN HUAC.

ABSTRACT

We present a Laboratory prospective clinical study, which lends itself to analyzing the behavior of the level of salicylate present in the serum of patients with cardiovascular diseases in chronic use of derivatives of salicylate to prevent thromboembolic events. From this perspective, and based on reference values of salicilemia, we use the method of Trinder (1954). We observed correlation between intake of AAS and the values of absorbance found, which showed small variance when comparing different samples from patients under a same dosage. The results show that the method is able to evaluate adherence to treatment and to indicate need for dosage adjustments that will result in an improve of the treatment and promotion of rational use of this medicine.

Key Words: salicylates; dosage; prevention; heart diseases.

1. Graduando em Medicina, Unidade Acadêmica de Ciências Médicas (UACM). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS). Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

2. Farmacêutica. Laboratório Multidisciplinar. Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde (UACS). CCBS – UFCG.

3. Professor Adjunto de Farmacologia e Toxicologia. Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde (UACS). CCBS – UFCG.

Correspondência: R. Cap. João Alves de Lira, n.447, ap.402. Prata. Campina Grande (PB). CEP: 58400-560.

Email: sjmariz22@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Os derivados dos salicilatos estão entre os mais antigos medicamentos que ainda ocupam um lugar importante na terapêutica moderna. Em 2011 o ácido acetilsalicílico (AAS) completa 110 anos e é considerado o medicamento mais conhecido e vendido no mundo. Possui 540 marcas comerciais distribuídas por todos os países, além do fato de que, a cada ano, surgem estudos sobre novas possibilidades de indicações para esse fármaco.

Como protótipo dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), uma das categorias de agentes farmacológicos mais consumidos pela população, o AAS é utilizado como analgésico, inclusive para cefaleias, como antipirético e também como anti-inflamatório no tratamento da artrite reumatoide, osteoartrite, febre reumática e outras condições semelhantes. Também inibe a agregação plaquetária, prevenindo a formação de trombos, com várias indicações para o combate de doenças cardiovasculares tais como a prevenção do infarto do miocárdio, angina instável e outros estados de isquemia cardíaca e eventos trombóticos no cérebro(1).

Muitas das cardiopatias são de evolução crônica e necessitam de tratamento prolongado, mas a evolução e o prognóstico são muito variáveis. Como a terapia dependerá do tipo de doença e do paciente em si, o diagnóstico correto e o tratamento adequado são fundamentais para um prognóstico mais favorável. O AAS é um fármaco muito presente na terapêutica de cardiopatias pela sua ação de antiagregante plaquetário e efeito colaborador na prevenção do

infarto e da angina. Todavia, variações na concentração orgânica do fármaco podem resultar em intoxicação ou efeito subterapêutico. Como causas relacionadas a esses problemas, podemos citar: mudanças no regime farmacoterápico; interações medicamentosas com alterações nos parâmetros cinéticos do paciente e, ainda, uso prolongado ou em altas doses do fármaco (2,3).

Com um intuito de prevenir tais riscos presentes não somente com o uso do AAS, mas de todo e qualquer medicamento, surgiu o que se convencionou chamar de monitorização de drogas terapêuticas (MDT ou, no inglês, TDM). Tal procedimento consiste em identificar quali e quantitativamente o fármaco usado, em uma amostra biológica do paciente (normalmente no sangue, plasma ou soro) de modo a verificar se a concentração obtida encontra-se dentro da faixa terapêutica para determinado fármaco em dada indicação⁴.

A determinação do nível de salicilato plasmático é útil para monitorar a adesão do paciente ao tratamento além de surgimento e/ou exacerbação de efeitos biológicos indesejáveis, posto que, no caso de alteração do regime de dosagem, um pequeno acréscimo na dose poderá provocar um desproporcional aumento da salicilemia. Dessa forma, o método empregado nessa pesquisa, por ser simples e de baixo custo, pode contribuir para solucionar uma lacuna existente na otimização do uso clínico deste importante fármaco.

A Salicilemia é o termo usado para se referir ao nível de salicilatos, como o AAS e ácido salicílico, presentes no fluido sanguíneo em geral.

Na prática, usa-se como amostras recomendadas, o plasma ou o soro. Entretanto, esses fármacos podem ser determinados em outros fluidos biológicos como a urina, conforme a finalidade da análise. A determinação dos níveis de salicilatos pode ser feita por um método analítico de baixo custo, exatidão e precisão adequadas, a saber, o método de Trinder, o qual se utiliza da técnica de espectrofotometria na região do visível. Em tal procedimento analítico, a concentração do ácido salicílico (produto de biotransformação do ácido acetilsalicílico) está diretamente relacionada à intensidade da coloração violeta do complexo formado entre o salicilato e o íon férrico oriundo do reagente cromogênico, o cloreto férrico. A quantidade do complexo formado é diretamente proporcional à quantidade do analito (ácido salicílico) presente na amostra (sangue), posto que a quantidade de reagente seja fixa. Esse complexo corado é quantificado pela medida da absorvância da luz em 540 nanômetros, que atravessa o tubo de ensaio com a amostra adicionada de reagente, em comparação com uma solução-padrão do analito em concentração conhecida, também adicionada de reagente(5,6).

A eficácia do método de Trinder para determinação da salicilemia entre usuários crônicos de AAS tem sido comprovada por estudos diversos. Em um deles, foram analisadas, pelo método colorimétrico de Trinder e espectrofluorimétrico de Baselt, 34 amostras de soro de crianças portadoras de artrite reumatoide juvenil, em tratamento com aspirina, associado ou não a outros anti-inflamatórios. Os resultados foram concordantes, mostrando a eficácia do

emprego do método de Trinder para a monitorização terapêutica do AAS (5). Outros elementos influentes na escolha desse método são: o fato deste ser muito simples, rápido, pouco oneroso, de fácil execução e, sobretudo, de eficácia analítica adequada ao propósito.

Apesar do método de Trinder já ter sido publicado e validado para determinação de salicilemia(5), é sabido que as condições laboratoriais variam e que, ao implantar-se um método validado, deve-se proceder aos estudos de avaliação dos parâmetros de confiança do procedimento analítico que se propõe a empregar o referido método com determinada finalidade. Isso, para otimizar, ou seja, encontrar as condições ideais de execução da metodologia proposta. Portanto, antes do emprego desse método para a determinação da salicilemia em pacientes cardiopatas do HUAC, procedemos à otimização do procedimento analítico no Laboratório Multidisciplinar (CCBS/UFCG) através da avaliação de parâmetros de confiança, a saber, exatidão, repetibilidade e reprodutibilidade (7).

A análise dos resultados aqui expostos foi apresentada aos prescritores para avaliação da necessidade e/ou viabilidade de proceder-se reajustes posológicos. Espera-se estimular outras instituições a desenvolverem parcerias clínico-laboratoriais semelhantes de modo a otimizar o uso do AAS como antiagregante plaquetário em cardiopatas, colaborando com a promoção do uso racional desse medicamento.

METODOLOGIA

Este estudo foi conduzido em conformidade com a Declaração de Princípios Éticos e de Boas Práticas Clínicas. Após adequação e aprovação por parte do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Alcides Carneiro (CPE-HUAC), protocolo de número 30062010 foi iniciada, no ambulatório de cardiologia, a seleção de pacientes. A assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido foi obtida de cada participante antes de quaisquer procedimentos relacionados ao estudo.

Todos os potenciais participantes foram selecionados entre os pacientes listados a serem atendidos no ambulatório de cardiologia do referido serviço. Todos os pacientes incluídos concordaram em preencher um questionário, no qual foram coletadas informações sócio-econômicas e dados clínicos relevantes a pesquisa.

População Estudada

Pacientes elegíveis eram homens ou mulheres com idade entre 18-85 anos com história de afecções do sistema cardiovascular em uso de AAS há mais de seis meses para profilaxia de eventos tromboembólicos. Foram excluídos pacientes que não preenchiam os critérios acima, mulheres que estavam grávidas ou amamentando.

A partir da coleta de 5mL de sangue de cada paciente foi extraído o soro necessário para aplicação do método colorimétrico de Trinder. As amostras foram refrigeradas por até 3 dias antes de sua análise, sem que houvesse prejuízo no resultado dos testes.

Protocolo Analítico

Para melhor precisão analítica todas as amostras foram armazenadas e analisadas no Laboratório Multidisciplinar do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (Lab Multi – CCBS), sendo utilizados os mesmos equipamentos laboratoriais. Neste ensaio utilizamos o espectrofotômetro Marca Thermo, Modelo Genesys 10Vis, Agitador tipo Vortex, marca AAKER, modelo QL-901 e a centrífuga, marca Bio Eng, Modelo BE6000.

Para a produção da solução padrão de salicilato (500 mg de ácido salicílico / 100 mL) foram dissolvidos 580 mg de salicilato de sódio em 100 mL de água destilada, sendo adicionado clorofórmio como conservante. Essa solução foi mantida sobre refrigeração por no máximo seis meses. Para produção do reativo cromogênico, foi realizada a mistura de 40 g de cloreto mercúrio com 40 g de nitrato férrico ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) em 850 mL de água deionizada; adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico concentrado, sendo o volume de tal solução completado para 1 L, com água deionizada. Esse reagente pode ser armazenado à temperatura ambiente por um ano, sem perda de estabilidade.

Durante a realização da análise foram usados três tubos de centrífuga, contendo respectivamente, 1 mL de soro da amostra do paciente, 1 mL da solução padrão adicionada ao branco de soro ou plasma (voluntários não expostos a salicilatos) em concentração correspondente a 20 mg% (controle) e 1 mL de branco de soro ou plasma (branco de reativos). Adicionou-se a cada tubo o reagente de Trinder sob agitação (Vortex) por alguns segundos, sendo

posteriormente centrifugado (2.000 rpm / 5 min). O líquido sobrenadante foi transferido para outros três tubos e, a partir daí, lida a absorbância (540 nm) do produto colorido formado na amostra e no controle, contra o branco de soro ou plasma.

A concentração de salicilato presente na amostra foi calculada com o auxílio de uma curva de calibração construída a partir de alíquotas da solução padrão adicionadas ao branco de soro ou plasma em concentrações correspondentes a 5, 10, 20, 30 e 40 mg de ácido salicílico / 100 mL. As leituras espectrofotométricas foram feitas contra o branco de soro ou plasma. As absorbâncias foram projetadas em ordenadas e a concentração (mg%), em abscissas. O limite de quantificação (LQ) desse método é de 5 mg%. No intervalo dinâmico considerado (5-40 mg%), ele é linear, e a precisão mostra coeficientes de variação (cv) que vão de 2,5 a 8,3%.

Os parâmetros de confiança do procedimento analítico avaliados foram: exatidão, reprodutibilidade e repetibilidade. A exatidão é calculada pelo percentual de inexatidão dos resultados das análises em amostras adicionadas, ou seja, de concentração conhecida. A repetibilidade é obtida pelo cálculo do coeficiente de variação percentual (cv%) entre os resultados (em quintuplicata) de cada concentração (de amostras adicionadas) em uma mesma corrida analítica. Ao procedermos ao mesmo cálculo de cv%, todavia em diferentes corridas analíticas, obtivemos o desempenho do método em termos de reprodutibilidade(7,8). As correlações estatísticas entre todos os parâmetros relacionados foram realizados com auxílio do programa Epiinfo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo analisado era composto por 85,7% de mulheres e 14,3% de homens, com média de idade de 55,21 anos, sendo 30,8% localizados na faixa de idade entre 50-59 anos. Desta população 78,6% se consideram brancos, 14,3% pardos e 7,1% negros. No tocante ao nível de instrução, 14,3% afirmam ser analfabetos, 21,4% dizem possuir ensino médio e 64,3% têm grau de instrução menor ou igual ao ensino fundamental. Quando comparamos este perfil populacional com os dados apresentados no sistema de cadastramento e acompanhamento de hipertensos e diabéticos, observamos também um predomínio significativo do número de mulheres, que perfazem, neste sistema, 64,5% da população cadastrada enquanto os homens correspondem a 35,4%. A faixa etária mais prevalente neste cadastro municipal é a de 50-59 anos, compatível com o observado em nosso estudo.

Consoante os procedimentos de aferição da pressão arterial, expressos na sexta diretriz brasileira de hipertensão (9), e utilizando-se da classificação desta quando aferida de forma casual no consultório, também presente na sexta diretriz, foi observado que 42,9% se enquadram com níveis pressóricos ótimos, 28,6% como níveis normais, 14,3% com níveis limítrofes, 7,1% com hipertensão em estágio I e 7,1% com hipertensão em estágio III. Os dados observados mostram um melhor controle de nossa população quando comparado aos valores observados em outros ensaios como o de Araújo et al. (2007), no qual 57% da população se enquadra com níveis

pressóricos ótimos ou normais, ou o estudo de Coelho et al. (2005), no qual 56% se enquadram com níveis pressóricos ótimos ou normais (10,11,12). A afecção do sistema vascular mais observada, como descrito na literatura, foi a

hipertensão arterial sistêmica acometendo 42,9% da amostra.

Temos que 21,4% deles apresentavam história prévia de infarto agudo do miocárdio e 28,6% tinham alguma valvulopatia.

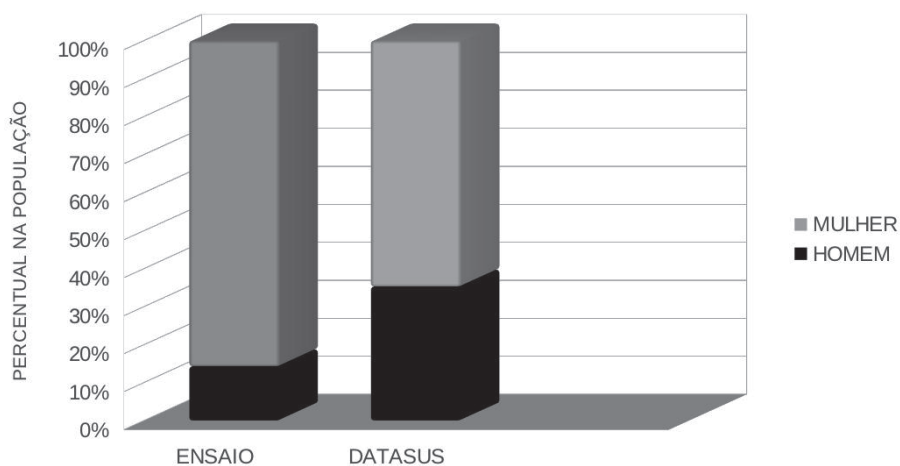


Figura 1. Distribuição dos pacientes por gênero (dados nacionais X nosso estudo).

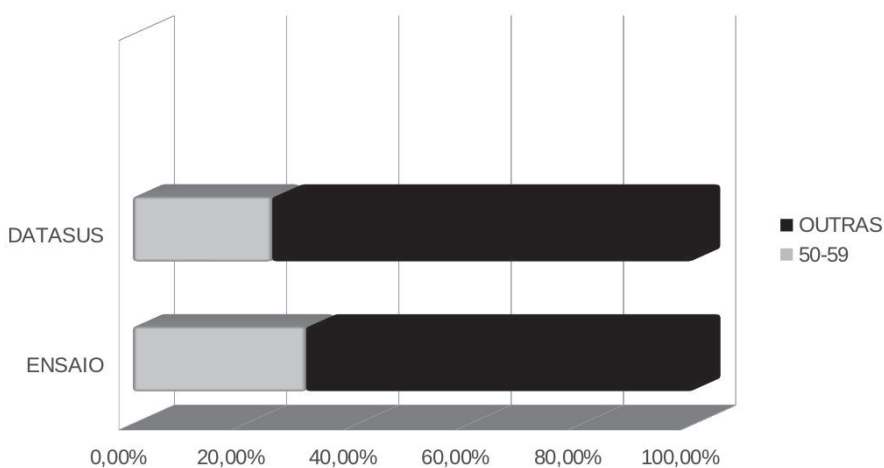


Figura 2. Distribuição dos pacientes por faixa etária (dados nacionais x nosso estudo).

Quando analisamos a variável “posologia de AAS” utilizada pelos pacientes, observamos um predomínio da utilização da dose de 100mg por dia, correspondendo a 92,9% da população.

Desses, 28,6% ingerem o fármaco no período da manhã (uso até 12h), 21,4% utilizam a noite (após 18h) e 42,9% a tarde (após 12h). O tempo médio de uso do fármaco foi de 7 anos e 6 meses.

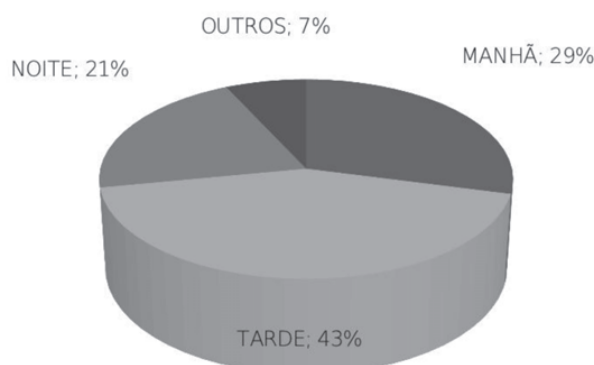


Figura 3. Distribuição dos pacientes quanto ao horário de uso do medicamento.

Aplicando-se o método de análise laboratorial de Trinder, obtivemos um grupo de valores de salicilemia, que devemos caracterizar para assim podermos delinear os padrões de distribuição da frequência destas grandezas.

Primeiramente, as amostras foram testadas para verificação de sua distribuição de probabilidade e homogeneidade das variâncias (homocedasticidade), através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene. As amostras obtiveram resultados positivos quanto a sua natureza paramétrica o que comprova que as mesmas se distribuem de forma normal.

Ao se realizar tal delineamento, constata-se que os dados obtidos da salicilemia, a partir da amostra selecionada, correspondem a um grande

número de elementos com valores próximos à média de 0,0327A e poucos indivíduos apresentando valores extremos, isto é próximos aos valores de 0,0160A e ao valor de 0,060^a, sendo esses os valores extremos (mínimo e máximo) obtidos nessa população. Pode-se, portanto, expressar os valores numéricos que determinam a distribuição, na qual, está a maior concentração de valores individuais de salicilemia, ou seja, as medidas de tendência central dos níveis sorológicos de salicilatos. Em nosso espaço amostral estas grandezas são de 0,0327A, quando nos referimos à média, de 0,03A quanto à mediana e de 0,042A ao se tratar de moda.

Observando os indicadores do grau de

variabilidade demonstrada pelas leituras em torno das medidas de tendência central, concluímos que a diferença entre cada dado de salicilemia e a média desta, ou seja, a variância é de 0,0002, indicando baixo grau de dispersão destes valores. Calculando-se o desvio médio em relação à média do conjunto de dados, obtemos o desvio padrão de 0,0144, reforçando a hipótese de que a amostra, representativa da medida de salicilatos presentes no soro dos pacientes, tem pequeno grau de dispersão.

Ao se analisar a distribuições das freqüências, dos valores de salicilemia obtidos laboratorialmente, não podemos nos limitar apenas quanto ao valor médio e à variabilidade. Deve-se considerar também a sua forma de distribuição, que pode ser simétrica ou assimétrica. Assim, uma das características mais importantes de uma distribuição de frequências é a simetria ou a falta dela. Em nosso caso observamos que a média, mediana e a moda apresentam valores diversos, caindo em pontos diferentes da distribuição, diz-se assim que a distribuição de frequências de leituras da salicilemia, pelo método de Trinder é assimétrica.

A proximidade obtida nos valores de salicilemia em nossa população decorre da posologia utilizada, que é a de 100mg diários em cerca de 92,9% da população, o que mostra ser o método de Trinder capaz de manter correlação com os níveis ingeridos. No tocante a fatores clínicos que possibilitassem alterações significativas na salicilemia dos pacientes, foi considerada a possibilidade de que o tempo da última dose utilizada e a área de superfície corporal do paciente, poderiam promover esta

alteração, não entanto estas variáveis não foram capazes promover alteração estatisticamente significativa nas amostras avaliadas.

CONCLUSÃO

A observação do estudo clínico laboratorial sugere que a determinação do nível de salicilato plasmático, pelo método de Trinder, é útil para monitorar a adesão do paciente ao tratamento farmacoterápico na prevenção de eventos tromboembólicos em cardiopatas. Isso é relevante ao se considerar que pequenas alterações farmacocinéticas podem gerar mudanças clínicas desproporcionais gerando risco de intoxicação ou efeito subterapêutico. Dessa forma, é possível afirmar que o procedimento analítico experimentado nessa pesquisa, por ser simples e economicamente pouco oneroso, pode contribuir para solucionar uma lacuna existente na otimização do uso clínico deste importante fármaco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PIEGAS LS et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre o tratamento do infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST. Arq Bras Cardiol 2009; 93(6, sup.2): e179-e264.
2. ALONZO HGA, CORRÊA CL, ZAMBRONE FAD. Analgésico, antipiréticos e antiinflamatórios não esteroidais: dados epidemiológicos em seis centros de controle de intoxicações do Brasil. Rev Bras Toxicol. 2001; 14 (2): 49-54.

3. GREENE SL, DARGAN PI, JONES AL. Acute poisoning: undestanding 90% of cases in a nutshell. *Postgrad Med J London*. 2005; 81: 204-216.
4. AVEZUM A et al. III Diretriz sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio. *Arq. Bras. Cardiol*. 83(4): 1-86. 2004.
5. MOREAU RLM. Ácido acetilsalicílico: determinação da salicilemia por espectrofotometria. In: MOREAU RLM, SIQUEIRAMEPB (Org.). *Toxicol anal*. 2008: 189-193.
6. WOOD DM, DARGAN PI, JONES AL. Measuring plasma salicylate concentrations in all patients with drug over-dose or altered consciousness: is it necessary? *Emerg Med J London*. 2005; 22: 401-403.
7. INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia. Normalização e qualidade Industrial. Vocabulário Internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia. 1995: 258p.
8. MARIZ SR, SILVA OA. Identificação de anfetamina em amostras de cabelo por imunofluorescência polarizada. *Rev Bras Cienc Farm*. 2003; 39 (1): 55-61.
9. Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010; 95(1 sup.1): 1-51.
10. SALA A, NEMES FILHO A, ELUF-NETO J. Avaliação da Efetividade do hipertensão arterial da Unidade Básica in Controle de Saúde. *Rev. Saúde Pública*. 1996; 30 (2): 161-167.
11. ARAUJO JC, GUIMARAES AC. Controle da hipertensão arterial em uma unidade de saúde da família. *Rev. Saúde Pública*. 2007; 41 (3): 368-374.
12. COELHO EB et al. Relação Entre uma assiduidade Às Consultas ambulatoriais e o Controle da pressao arterial in Pacientes hipertensos. *Arq Bras Cardiol*. 2005; 85 (3): 157-161.
13. BERKOVITCH M. et al. False-high blood salicylate levels in neonates with hyperbilirubinemia. *Ther Drug Monit*. 2000; 22 (6): 757-761.
14. DATASUS: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2007/d13.def> acessado em 18 de maio de 2011.
15. MION Jr D et al. IV diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. *Arq Bras Cardiol*. 2004; 82 (4):7-14.
16. MONTERA MW et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Aguda. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 93 (3): 1-65.
17. ZIMERMAN LI et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes Brasileiras de Fibrilação Atrial. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92(6 sup 1): p. 1-39.

Recebido em: Agosto/2011

Aceito em: Novembro/2011