

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS – CCT**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA – PPGEEL**

**FERNANDA MALTAURO DE CORDOVA**

**NOVA ABORDAGEM DA GLICOSE SANGUÍNEA POR ESPECTROMETRIA DE  
EMIÇÃO ÓTICA**

**JOINVILLE**

**2024**

**FERNANDA MALTAURO DE CORDOVA**

**NOVA ABORDAGEM DA GLICOSE SANGUÍNEA POR ESPECTROMETRIA DE  
EMIÇÃO ÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

Orientador: Pedro Bertemes-Filho

**JOINVILLE**

**2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Universitária Udesc,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Cordova, Fernanda

Nova abordagem da glicose sanguínea por espectrometria de  
emissão ótica / Fernanda Cordova. -- 2024.

56 p.

Orientador: Pedro Bertemes Filho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Tecnológicas, Programa de  
Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Joinville, 2024.

1. Coeficiente de extinção. 2. Diabetes. 3. Espectrometria. 4.  
Glicose. 5. Modelagem. I. Bertemes Filho, Pedro . II. Universidade  
do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Tecnológicas,  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. Título.

**FERNANDA MALTAURO DE CORDOVA**

**NOVA ABORDAGEM DA GLICOSE SANGUÍNEA POR ESPECTROMETRIA DE  
EMIÇÃO ÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

Orientador: Pedro Bertemes-Filho

**BANCA EXAMINADORA:**

Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho  
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membros:

Prof. Dr. Fabrício Noveletto  
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Prof. Dr. Thiago Gomes Heck  
Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ

Joinville, 19 de agosto de 2024



Aos meus pais, que viveram o sonho junto  
comigo.

À minha perseverança.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço aos meus pais, Marise Maltauro de Cordova e Marcos Antônio de Cordova, berços incondicionais de amor, suporte, auxílio, paz e sabedoria. Obrigada por apoiarem todos os meus sonhos e por se fazerem presentes em todos os momentos mais importantes da minha vida de todas as formas cabíveis, física, emocional e financeira.

Ao meu parceiro de vida e de amor incondicional, Drayttonn Johansson Stainik Matias, por me escutar e acolher em incontáveis horas de desespero, felicidade e tristeza. Obrigada por se fazer presente e por não deixar de me apoiar por um minuto sequer.

A minha eterna professora, colega de profissão e amiga com quem dividi momentos incríveis de lazer, aprendizado e de trabalho, Yana Picinin Sandri Lissarassa. Você foi essencial na minha trajetória.

Às minhas amigas Maria Eduarda Paludo Kafer, Flávia Thaís de Mello Candeia Perotti, Fernanda Siqueira Araújo e Alana Farad Carminati, por sempre me lembrarem que jamais andei sozinha, por mais longe que eu estivesse. Obrigada por serem minhas amigas, minha família fora do laço sanguíneo e as irmãs que nunca tive.

A uma colega da trajetória, que se tornou amiga, socorro e professora, Bruna Gabriela Pedro. Tua empolgação, tuas ideias e ensinamentos fizeram parte dessa jornada.

Aos professores do departamento de Engenharia Elétrica da Universidade do Estado de Santa Catarina por me impulsionarem, apoiarem e por acreditarem no meu potencial dentro de um campo tão distante da minha formação.

Finalizando, mas de longe deixando o menos importante para o final, ao meu orientador dr. Pedro Bertemes Filho por todos os momentos de orientação, aprendizado, trabalho e descontração. Obrigada por me conduzir e conduzir meu trabalho na melhor trilha, pelas oportunidades e pela confiança. Serei eternamente grata por tudo o que pude aprender e por todas as vezes que tive a honra de participar e ajudar.

Por fim, agradeço a todos os amigos e familiares que participaram de forma direta ou indireta ao longo da jornada, me apoiando, escutando, suportando e ajudando. Cada um de vocês deixou a jornada mais leve, agradável e possível. Obrigada.

“Ninguém é tão grande que não possa aprender,  
nem tão pequeno que não possa ensinar”  
(Esopo)

## RESUMO

O número de pacientes diabéticos cresce de forma desenfreada há mais de uma década e de acordo com a Organização Mundial da Saúde, a doença já se tornou uma epidemia. O cenário urgente de saúde pública clama por avanço tecnológico nos segmentos relacionados ao diagnóstico e acompanhamento da doença. O trabalho teve como objetivo investigar e modelar o comportamento óptico da glicose e da insulina como ferramenta metodológica para aplicação em dispositivos não-invasivos de monitoramento glicêmico. Dois voluntários foram submetidos a um protocolo clínico desenhado à necessidade do estudo. Cada participante foi submetido a um teste oral de tolerância à glicose, onde quatro amostras de plasma fluoretado foram obtidas de cada voluntário. As amostras foram destinadas à análise de concentração dos analitos e ao processamento óptico por varredura. O espectro óptico analisado foi de 700 a 1400 nm. Os resultados de glicose variaram de 89 a 194 mg/dL, enquanto os de insulina tiveram valores entre 10,66 e 234,20  $\mu$ UI/mL. A análise do comportamento óptico e da relação absorvância e comprimento de onda evidenciou dois picos de atividade em segmentos diferentes do espectro analisado. Dois blocos de três comprimentos de onda situados nos picos de atividade óptica foram avaliados. A análise dos resultados revela um padrão de comportamento óptico do plasma sanguíneo. Os valores de absorvância investigados para cada amostra demonstra que o comportamento não segue o que é proposto pela Lei de Beer. O não cumprimento da linearidade proposta pela Lei de Beer pelas amostras analisadas limita a modelagem matemática estabelecida pelo estudo. A metodologia proposta possibilita a análise completa do padrão e comportamento óptico de amostras biológicas, e o plasma humano apresenta comportamento óptico complexo e que não depende apenas de concentrações dos analitos. A expansão amostral é importante para validar a reprodutibilidade analítica da metodologia.

**Palavras-chave:** Coeficiente de extinção. Diabetes. Espectrometria. Glicose. Modelagem.

## ABSTRACT

The number of diabetic patients has been growing uncontrollably for over a decade, and according to the World Health Organization, the disease has become an epidemic. The urgent public health scenario demands technological advancements in the areas related to diagnosis and monitoring of the disease. This work aimed to investigate and model the optical behavior of glucose and insulin as a methodological tool for application in non-invasive glycemic monitoring devices. Two volunteers underwent a clinical protocol designed to meet the study's needs. Each participant was subjected to an oral glucose tolerance test, from which four samples of fluoridated plasma were obtained from each volunteer. The samples were intended for analysis of analyte concentration and for optical processing by scanning. The analyzed optical spectrum ranged from 700 to 1400 nm. The glucose results varied from 89 to 194 mg/dL, while the insulin values ranged between 10.66 and 234.20 UI/mL. The analysis of the optical behavior and the relationship between absorbance and wavelength revealed two activity peaks in different segments of the analyzed spectrum. Two blocks of three wavelengths located at the optical activity peaks were evaluated. The analysis of the results reveals a pattern of optical behavior of the blood plasma. The absorbance values investigated for each sample demonstrate that the behavior does not follow what is proposed by Beer's Law. The failure to comply with the linearity proposed by Beer's Law in the analyzed samples limits the mathematical modeling established by the study. The proposed methodology enables a complete analysis of the pattern and optical behavior of biological samples, and human plasma exhibits complex optical behavior that does not depend solely on the concentrations of the analytes. Expanding the sample size is important to validate the analytical reproducibility of the methodology.

**Keywords:** Diabetes. Extinction coefficient. Glucose. Modeling. Spectrometry.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Incidência de um raio de luz na superfície entre dois meios. . . . .	18
Figura 2 – Espectro eletromagnético. . . . .	19
Figura 3 – Transmissão de um feixe de luz. . . . .	20
Figura 4 – Estrutura de um espectrofotômetro. . . . .	22
Figura 5 – Reação da glicose-oxidase. . . . .	27
Figura 6 – Reação da glicose-desidrogenase. . . . .	28
Figura 7 – Modelos comerciais do glicosímetro Accu-chek®. . . . .	28
Figura 8 – Glicosímetro FreeStyle Libre . . . . .	29
Figura 9 – Tecnologia <i>wired enzyme</i> . . . . .	30
Figura 10 – Fluxo pré-analítico e analítico das amostras coletadas. . . . .	35
Figura 11 – Método da glicose hexoquinase. . . . .	36
Figura 12 – Quimioluminescência. . . . .	37
Figura 13 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda das amostras de V1. . . . .	41
Figura 14 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda das amostras de V2. . . . .	42
Figura 15 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda de amostras de plasma com 2 voluntários - testes preliminares de 2023. . . .	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Resultados laboratoriais de glicose e insulina para os voluntários V1 e V2. . .	40
Tabela 2	– Resultados laboratoriais e valores das absorbâncias em 965, 975 e 985 nm, para cada amostra, em V1 e V2. . . . .	43
Tabela 3	– Resultados laboratoriais e valores das absorbâncias em 1135, 1145 e 1155 nm, para cada amostra, em V1 e V2. . . . .	45
Tabela 4	– Coeficientes $\alpha_g$ e $\alpha_i$ em diferentes comprimentos de onda, para V1 e V2. . .	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AbsA	Absorbância da amostra
AbsP	Absorbância do Padrão
aC	Antes de Cristo
ADP	Adenosina difosfato
AMGC	Automonitoramento da glicemia capilar
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina trifosfato
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
dL	Decilitro
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
FC	Fator de correção
FDI	Federação Internacional de Diabetes
HBV	Vírus da Hepatite B
Hz	Hertz
ISO	International Organization for Standardization
LAI	Laboratório de Análise Instrumental
mg	Miligrama
MCG	Monitoramento Contínuo de Glicose
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
nm	Nanômetros
OMS	Organização Mundial da Saúde
POC	Point-of-care
PPGEEL	Programa de pós-graduação em engenharia elétrica
SUS	Sistema Único de Saúde
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UI	Unidade Internacional
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
V1	Voluntário 1
V2	Voluntário 2



## LISTA DE SÍMBOLOS

$A$	Absorbância
$\alpha_f$	Coefficiente de extinção molar do fluido remanescente
$\alpha_g$	Coefficiente de extinção molar da glicose
$\alpha_i$	Coefficiente de extinção molar da insulina
$c$	Velocidade da luz no vácuo
$C_f$	Concentração do fluido remanescente
$C_g$	Concentração de glicose
$C_i$	Concentração de insulina
$E$	Energia da onda
$\epsilon$	Coefficiente de extinção molar
$g$	Grama
$h$	Constante de Planck
$I$	Radiação emergente
$I_0$	Radiação incidente
$l$	Caminho óptico
$\lambda$	Comprimento de onda
$\lambda_{max}$	Comprimento de onda máximo
$n$	Índice de refração
$\%$	Porcento
$\theta$	Theta
$T$	Transmitância
$\mu$	Micro
$\nu$	Frequência
$V_i$	Velocidade da luz

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO . . . . .</b>	<b>14</b>
1.1	OBJETIVOS . . . . .	15
1.1.1	Objetivo geral . . . . .	15
1.1.2	Objetivos específicos . . . . .	15
1.2	ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO . . . . .	15
<b>2</b>	<b>ESTADO DA ARTE . . . . .</b>	<b>17</b>
2.1	FOTOMETRIA E O ESTUDO ÓPTICO DE MOLÉCULAS . . . . .	19
2.1.1	Métodos de medição da atividade óptica . . . . .	21
2.1.2	Aplicações da fotometria na saúde interdisciplinar . . . . .	22
<b>3</b>	<b>CENÁRIO HISTÓRICO DA DIABETES . . . . .</b>	<b>24</b>
3.1	ESTATÍSTICAS GLOBAIS E ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS . . . . .	25
3.2	FERRAMENTAS DE CONTROLE E MONITORAMENTO DA GLICEMIA . . . . .	25
3.2.1	Dispositivos invasivos de estimativa da glicemia . . . . .	26
3.2.2	Dispositivos não-invasivos de estimativa da glicemia . . . . .	30
<b>4</b>	<b>DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS CLÍNICOS . . . . .</b>	<b>33</b>
4.1	DELINEAMENTOS DO ENSAIO . . . . .	33
4.1.1	População e amostra . . . . .	33
4.1.2	Crítérios de inclusão . . . . .	34
4.1.3	Crítérios de exclusão . . . . .	34
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS . . . . .	34
4.2.1	Metodologia clínica: coleta e manejo das amostras . . . . .	34
4.2.2	Metodologia laboratorial . . . . .	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES . . . . .</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS . . . . .</b>	<b>48</b>
6.1	CONCLUSÃO . . . . .	48
6.2	TRABALHOS FUTUROS . . . . .	48
	<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma epidemia global, a diabetes é caracterizada por hiperglicemia persistente, resultante da insuficiência ou incapacidade funcional da insulina. A Federação Internacional de Diabetes (FDI) estima que em 2040 o número de pessoas convivendo com a doença no planeta ultrapasse os 700 milhões (FDI, 2021).

A epidemia de diabetes vai muito além da barreira da saúde, se tornando uma grave situação de políticas e gastos públicos. Em 2018 os custos do Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro com diabetes ultrapassaram a marca de R\$1 bilhão. Os valores foram destinados ao diagnóstico, tratamento, manutenção e acompanhamento de pacientes (Fernandes et al., 2018).

A glicemia é a métrica mais importante para a implementação do tratamento e manejo correto do acompanhamento do paciente diabético. O controle diário pode ser feito pelo próprio paciente através de dispositivos de monitoramento contínuo de glicose (MCG) (Pedro; Bertemes-Filho, 2021b).

O método de MCG mais conhecido é baseado em um sensor eletroquímico e enzimático. Apesar de acessíveis, os métodos tradicionais de MCG ainda requerem pequenos volumes de sangue, geralmente obtidos da polpa digital ou do lóbulo da orelha. Por essa razão, o método se torna inconveniente, doloroso e de difícil aderência em determinadas populações – crianças e idosos, por exemplo (Zhang et al., 2021).

Nas últimas décadas, o desenvolvimento de dispositivos não-invasivos para MCG ganhou espaço e se tornou uma urgência de saúde no cenário atual da diabetes. Trazendo mais qualidade de vida aos pacientes, dispositivos que dispensam o uso de sangue podem combinar princípios e técnicas elétricas e ópticas.

A combinação de diferentes técnicas, como a impedância elétrica e a fotometria, busca modelar dispositivos vestíveis, não-invasivos, precisos, exatos e adequados, que atendam à realidade e necessidade apresentada pelo paciente diabético em seus diferentes momentos ao longo da trajetória de diagnóstico, tratamento e estabilidade do quadro clínico.

Como todo cenário de inovação e tecnologia aplicada à saúde, existem diversas limitações técnicas e metodológicas relacionadas aos dispositivos não-invasivos encontrados hoje no mercado, como a necessidade recorrente de calibração e baixo desempenho em cenários extremos, de hipoglicemia e hiperglicemia, por exemplo (Batra; Tomar; Kapoor, 2016).

O estudo óptico de biomoléculas busca esclarecer a interação de moléculas orgânicas com a luz e quais as grandezas resultantes. Batra, Tomar e Kapoor (2016) evidenciaram os sensores ópticos como alternativas funcionais em sistemas de MCG em dispositivos não-invasivos.

Um glicosímetro de pulso baseados em 3 LEDS de comprimentos de onda diferentes foi proposto através de modelagem matemática, aliando a lei de Lambert-Beer e a pletismografia. Quando associadas em um sistema de medição, a pletismografia e a lei de Lambert-Beer são capazes de identificar pequenas mudanças volumétricas na base microvascular do tecido sob estudo (Pedro; Bertemes-Filho, 2021a).

A necessidade de aprimoramento de dispositivos já existentes, bem como a criação de novos, deve ser unida à necessidade de quebra de limitações técnicas e metodológicas das aplicações atuais. Para tanto, conhecer a característica estrutural da glicose e a interação da molécula com o meio é essencial para a construção de sistemas de medição confiáveis, reprodutíveis e exatos.

O estudo da interação entre moléculas envolvidas no metabolismo da glicose e na fisiopatologia da diabetes, como a insulina, se torna uma ferramenta poderosa no desenvolvimento e aprimoramento de dispositivos não-invasivos para MCG, abrangendo variáveis biológicas, físicas e químicas.

A problemática relacionada à forma de abordagem clínica dos MCGs tradicionais, e os empecilhos metodológicos associados à dispositivos não-invasivos já existentes, abre janelas para a testagem clínica e laboratorial no segmento.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar e modelar a concentração de glicose em dispositivos fotométricos não-invasivos.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Investigar o comportamento da absorbância de amostras de plasma em função da concentração de glicose e insulina;
- Desenvolver uma equação para cálculo de glicose estimada a partir do coeficiente de extinção molar da glicose;
- Realizar a coleta de dados clínicos dois voluntários saudáveis.

## 1.2 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nessa dissertação, o assunto será tratado da seguinte maneira:

- o **capítulo 2** introduz o estado da arte, abordando a fotometria no estudo de biomoléculas, os princípios físicos da interação da luz com a matéria serão esclarecidos para que, posteriormente, possam ser empregados na compreensão do uso da fotometria em técnicas de caracterização única de moléculas - como a luz é utilizada para a investigação do espectro e da identidade óptica de cada molécula, bem como o comportamento da mesma em diferentes comprimentos do espectro eletromagnético;
- o **capítulo 3** descreve o cenário global da diabetes através de uma prospecção histórica, trabalhando com estatísticas globais e nacionais. Após um histórico geral acerca da doença e da contextualização epidemiológica, os métodos de controle da doença

serão descritos com detalhes, chegando aos dispositivos não-invasivos e suas principais características, benefícios e desafios na atualidade;

- o **capítulo 4** reproduz o ensaio clínico conduzido no presente trabalho, retratando a população, as condições clínicas e os materiais utilizados para a condução de todo o protocolo clínico necessário para a obtenção de dados;
- o **capítulo 5** apresenta e discute os resultados obtidos a partir do ensaio clínico. Os dados serão expostos no formato de variáveis segmentadas, enquanto a discussão será responsável por unir a significância clínica e laboratorial dos dados;
- por fim, o **capítulo 6** conclui o trabalho, recapitulando o que foi apresentado, a relevância do trabalho no contexto tecnológico, as principais contribuições e, também, sugestões de trabalhos futuros que possam aprimorar o estudo proposto.

## 2 ESTADO DA ARTE

A óptica é um dos mais extensos ramos da física. Estudando a luz, suas características físicas, a propagação e a interação da luz com a matéria, a óptica abrange diversos segmentos científicos e tecnológicos na atualidade (Azevedo; Sousa; Castro, 2019).

O uso da luz deriva o estudo de diversos parâmetros em uma mesma função, como o estudo das propriedades físicas da onda eletromagnética e os fenômenos sofridos pela luz ao interagir com o meio (Zilio, 2017).

O estudo dos fenômenos ópticos ganhou força no século XVII com a construção de telescópios baseados em espelhos e lentes côncavas e/ou convexas, que possibilitaram a compreensão mais dinâmica de processos sofridos pela luz ao atravessar diferentes meios (Zilio, 2017).

A compreensão da luz tem duas derivações. Uma delas assume que a luz é constituída de partículas, teoria que foi aceita totalmente de forma única até 1830, quando Huygens e Young formularam experiências que demonstraram o comportamento ondulatório da luz (Bagnato; Pratavieira, 2015).

Os experimentos propostos permitiram a formulação de modelos para a propagação da onda e a visualização dos efeitos sofridos pela luz ao longo da dissipação no meio, como a reflexão, refração e difração (Bagnato; Pratavieira, 2015).

A compreensão da natureza eletromagnética da luz facilitou o estudo da propagação da luz no vácuo e em outros materiais. A relação da luz com a matéria é baseada nos campos elétricos e magnéticos da luz que interagem com as cargas da matéria em questão (Tipler; Llewelin, 2010).

Alguns fenômenos observados a partir do estudo entre a luz e a matéria não eram explicados a partir da teoria ondulatória puramente. Portanto a luz tem natureza dual reconhecida, a partir do comportamento ondulatório e corpuscular, que alteram de acordo com a circunstância (Zilio, 2017).

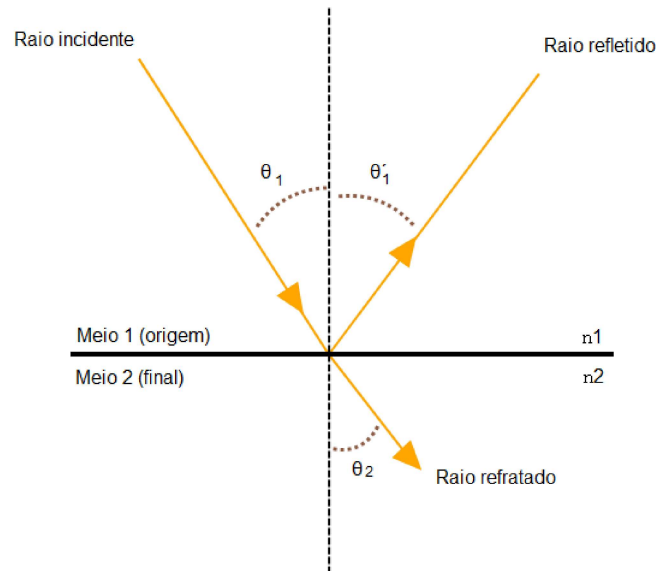
Quando a luz atinge uma superfície e atravessa o meio de origem para um novo meio, parte da luz é refletida, ou seja, volta ao meio de origem, e outra parte é transmitida ou refratada no novo meio, de acordo com o índice de refração (Bagnato; Pratavieira, 2015).

Na figura 1 é possível observar os fenômenos subsequentes da incidência de um raio de luz em uma superfície. Onde o raio incidente, originado no meio 1, com índice de refração  $n_1$ , atinge a superfície com ângulo  $\theta_1$ , onde uma parte é refletida sob ângulo  $\theta'_1$ , atingindo o meio 2, com índice de refração diferente,  $n_2$ , e tem refração dada sob ângulo  $\theta_2$ .

Alguns aspectos físicos da teoria ondulatória são essenciais na compreensão da interação da luz com a matéria. Como todo movimento oscilatório, a luz apresenta diferentes comprimentos de onda ( $\lambda$ ) no espectro eletromagnético. O comprimento de onda diz respeito a distância entre dois máximos ou mínimos de onda (Atkins, 1994).

A frequência ( $\nu$ ) é o número de oscilações completas que a onda faz a cada segundo (ciclos por segundo), onde a unidade de medida é o segundo recíproco ou Hertz (Hz), correspondendo a

Figura 1 – Incidência de um raio de luz na superfície entre dois meios.



Fonte: A autora.

uma oscilação por segundo (Reitz; Milford; Christy, 1982).

A velocidade da luz depende, sobretudo, do meio pelo qual ela atravessa. A velocidade da luz é representada por  $c$ , onde no vácuo é igual a  $2.998 \times 10^8$  m/s. A velocidade da luz em um meio que não seja o vácuo é demonstrada pela equação (1) onde  $c$  é a velocidade da luz no vácuo e  $n$  é o índice de refração do meio em questão.

$$V_i = \frac{c}{n} \quad (1)$$

A frequência se relaciona com a energia ( $E$ ) da onda, o que pode ser visto na equação (2), onde  $h$  é a constante de Planck ( $6.626 \times 10^{-34}$  Joules/s).

$$E = h \cdot \nu \quad (2)$$

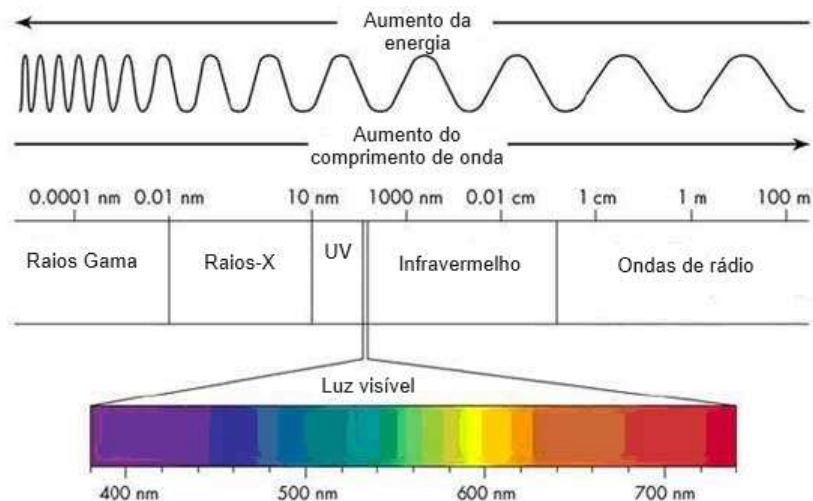
Combinando as equações (1) e (2), obtém-se a equação (3), onde estabelecemos que a frequência é proporcional à energia e inversamente proporcional ao comprimento de onda.

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (3)$$

As correlações matemáticas entre as grandezas físicas da onda permitem identificar que quanto menor o comprimento de onda, maior a frequência e maior a energia, onde o contrário também é verdadeiro, comprimentos de onda maiores, tem menor frequência e menor energia (Atkins, 1994).

A figura 2 mostra o espectro eletromagnético e as representações de comprimento de onda, quantidade de energia e a porção do espectro que compreende a luz visível ao olho humano. Uma boa exposição da relação inversamente proporcional entre frequência e comprimento de onda são os raios gama, ondas com comprimento de onda muito pequenos, mas com alta energia e alto poder penetrante, capazes de alterar estruturas celulares, por exemplo, como DNA e membrana plasmática (Pratavieira et al., 2011).

Figura 2 – Espectro eletromagnético.



Fonte: Adaptado de (Santos et al., 2018).

A compreensão da luz, dos fenômenos que circulam a física óptica e a interação da luz com a matéria possibilitaram o desenvolvimento de tecnologias que empregam a luz como princípio básico.

## 2.1 FOTOMETRIA E O ESTUDO ÓPTICO DE MOLÉCULAS

Ao longo dos anos, metodologias para análises quantitativas, equipamentos capazes de quantificar luz, filtrar comprimentos de onda e realizar medidas relacionadas aos fenômenos sofridos pela luz ao interagir com diferentes amostras ganharam espaço no cenário analítico (Voet; Voet, 1995).

A espectrofotometria é uma das técnicas analíticas mais aplicadas em determinações quantitativas de analitos. A robustez da metodologia, aliada à instrumentação simples e de baixo custo contribuem para a popularidade da técnica (Harris, 2005).

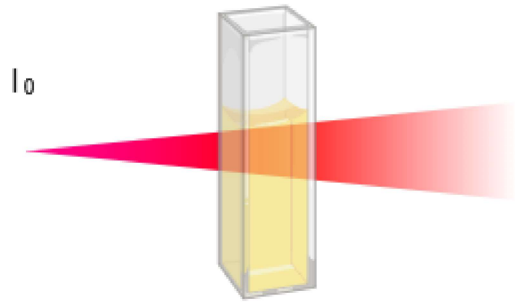
A espectrofotometria se baseia em medidas de absorção de radiação eletromagnética por espécies em solução. A radiação pode ser emitida no espectro visível (400 a 800 nm) ou ultravioleta (180 a 400 nm) (Harris, 2005).

Quando a luz atravessa uma solução, parte da energia é absorvida pela solução e outra parte é transmitida. A quantidade de radiação absorvida e transmitida pode ser medida através de um espectrofotômetro (Lima, 2013).



Quando um feixe de luz de intensidade conhecida ( $I_0$ ) atravessa uma amostra e a quantidade de luz emergida ( $I$ ) é medida, a transmitância ( $T$ ) pode ser calculada. A figura 3 representa um feixe de luz ( $I_0$ ) incidindo sobre uma amostra, onde o feixe emergente ( $I$ ) pode ser medido.

Figura 3 – Transmissão de um feixe de luz.



Fonte: A autora.

A transmitância corresponde ao quociente entre a potência da radiação de saída ( $I$ ) e a de entrada ( $I_0$ ), respectivamente. A equação (4) corresponde a fórmula matemática da transmitância.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (4)$$

A absorbância corresponde ao simétrico do logaritmo da transmitância, a equação (5) mostra a relação (Lima, 2013).

$$A = \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\log T = \log\left(\frac{1}{T}\right) \quad (5)$$

Quando um feixe incide sobre uma amostra, radiações de dados comprimentos de onda são seletivamente absorvida. Há transferência de energia nesse processo de absorção, da radiação incidente aos átomos, íons e moléculas da mostra (Voet; Voet, 1995).

A absorção de radiação na região visível do espectro eletromagnético, vide figura 2, é responsável pela coloração da matéria. A partir da teoria das cores complementares, é possível deduzir em que região do espectro ocorre a absorção de luz (Atkins, 1994).

Uma solução que, por exemplo, absorve radiação na região do verde (480 a 560 nm), se apresenta com cor vermelha, sendo correspondente à combinação de cores transmitidas pela solução, ou seja, os comprimentos não absorvidos (Marczenko, 1976).

A lei de Lambert-Beer estabelece uma relação entre a absorbância de uma amostra quando submetida a passagem de um feixe monocromático e a concentração de dado soluto. Em resumo, a lei de Beer pode ser traduzida pela expressão matemática demonstrada na equação (6).

$$A = \epsilon.l.c \quad (6)$$

Onde:

$A$  corresponde à absorvância;

$\epsilon$  corresponde o coeficiente de absorção molar da espécie em solução;

$l$  corresponde ao caminho percorrido pela radiação; e,

$c$  corresponde à concentração molar da espécie em solução.

O referido coeficiente é particular e característico de cada analito sob estudo. Corresponde a medida da capacidade de um analito em absorver radiação, sob dado comprimento de onda, geralmente o de maior absorção ( $\lambda_{max}$ ) (Lima, 2013).

Na prática analítica, o coeficiente de extinção molar é aplicado para se estimar concentrações de espécies em solução, quando o caminho óptico e o valor mínimo de absorvância são fornecidos, utilizando a lei de Beer (Marczenko, 1976).

### 2.1.1 Métodos de medição da atividade óptica

Espectrofotômetros são os dispositivos comerciais destinados às medidas espectrofotométricas. A instrumentação do espectrofotômetro pode ser dividida em compartimentos: a fonte de radiação, um seletor de comprimento de onda, a compartimentação para amostra, um sistema de detecção e um sistema de análise e processamento de dados (Vasconcelos, 2019).

A figura 4 representa a estrutura e os compartimentos de um espectrofotômetro, onde podemos observar a fonte de radiação (1), o monocromador e seletor de comprimento de onda (2), que permitem que um feixe monocromático seja incidido sobre a amostra (3). A radiação emergente é detectada por um sistema detector baseado em sistema elétrico de detecção (4) e a leitura, análise e disposição dos dados pode ser feita de forma computadorizada, onde os dados são diretamente transportados a um sistema operacional, ou apresentados em mostrador digital (5).

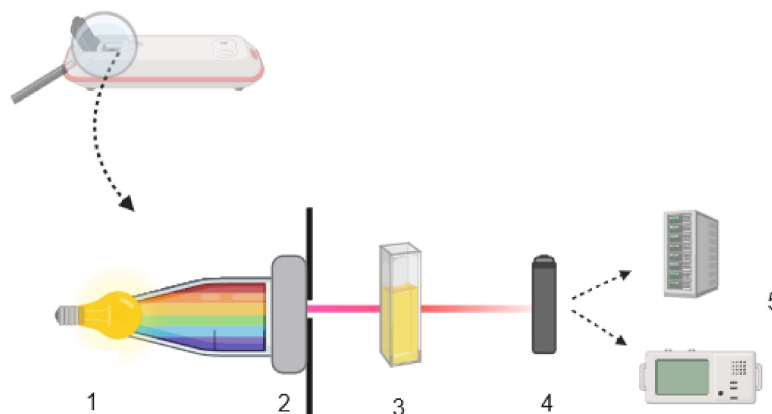
A fonte de energia luminosa precisa ser estável e constante. Para atender às exigências analíticas, diferentes lâmpadas são empregadas nas análises do espectro visível, infravermelho e do ultravioleta. A lâmpada incandescente de tungstênio é a fonte de radiação mais utilizadas em análises do espectro infravermelho e visível, enquanto as lâmpadas fluorescentes de hidrogênio e hélio são utilizadas para análises no ultravioleta (Marczenko, 1976).

O monocromador e o seletor de comprimentos de onda permite filtrar e direcionar um feixe monocromático à amostra. Nos espectrofotômetros comerciais mais utilizados o monocromador é composto por um prisma associado à grades de difração (Vasconcelos, 2019).

A fendas de passagem e lentes direcionadoras existem para colimar e direcionar o feixe de forma adequada à amostra.

A amostra é aportada em cubetas próprias para espectrofotometria. O material da cubeta deve ser escolhido de acordo com a faixa do espectro eletromagnético a ser trabalhada. Cubetas

Figura 4 – Estrutura de um espectrofotômetro.



Fonte: A autora.

de quartzo ou sílica fundida são utilizadas em análises UV, enquanto análises que trabalham no espectro visível podem ser realizadas com cubetas de plástico ou vidro (Atkins, 1994).

Os sistemas detectores se baseiam na conversão da energia radiante em energia elétrica. Um desses sistemas, também um dos mais empregados em espectrofotômetros são as células fotoelétricas. Tendo como princípio físico o efeito fotoelétrico, quando um fóton visível ou UV atinge a placa detectora, há liberação de um elétron livre. Os elétrons liberados são captados por um eletrodo, produzindo corrente elétrica. (Tipler; Llewelin, 2010).

Mais importante do que detectar a energia emergente, é dispor os resultados em unidades ópticas habituais. Os softwares de análise e tradução dos dados trabalha com algoritmos e modelos matemáticos que convertem a corrente elétrica produzida em valores de absorbância (Vasconcelos, 2019).

### 2.1.2 Aplicações da fotometria na saúde interdisciplinar

O diagnóstico assertivo e o acompanhamento preciso de métricas laboratoriais e clínicas é o pilar para uma medicina preventiva e terapêutica de sucesso, para isso, análises quantitativas são essenciais à rotina clínica e analítica (Oliveira, 2012).

Os métodos colorimétricos são empregados de forma sólida nas análises clínicas há mais de uma década. Com eles, a utilização de reagentes para analitos específicos produz produtos coloridos, cuja intensidade de cor é proporcional ao analito investigado (Motta, 2005).

Os métodos laboratoriais empregados na dosagem de glicose são baseados em metodologia óptica, onde há formação de produto colorido a partir de um reagente de cor e a leitura da absorbância da amostra em comprimento de onda específico de acordo com o reagente e fabricante (Cisternas; Varga; Monte, 2005).

Diferentes dispositivos não-invasivos empregam a fotometria para coletar dados e sinais biomédicos, como a oximetria e leitura de pulso cardíaco. No oxímetro a fonte emissora de luz são

dois diodos emissores de luz e um fotodetector. Os diodos emissores emitem luz monocromática em dois comprimentos de onda distintos, 660 e 940 nm, que correspondem aos coeficientes de extinção molar da oxihemoglobina e desoxihemoglobina, respectivamente (Andrade, 2009).

Por se tratar de uma metodologia de baixo custo e com instrumentação simples, a fotometria tem alcançado cada vez mais espaço em dispositivos de monitorização da saúde e de acompanhamento de métricas analíticas.

A espectroscopia óptica tem sido pontuada como metodologia para a modelagem de dispositivos não-invasivos de quantificação de glicose. Estudos preliminares sobre o comportamento óptico da glicose identificaram atividade nas regiões do infravermelho próximo e médio no espectro (Laha et al., 2022).

O estudo da perturbação óptica provocada por diferentes concentrações de glicose nessa região de comprimento de onda, a partir da intensidade da luz transmitida, refletida ou absorvida, pode ser empregado no desenvolvimento de modelos matemáticos e ópticos para a estimativa de glicemia (Laha et al., 2022).

Em 2016 os sensores ópticos já surgiam como uma ferramenta barata, acessível e assertiva na construção de dispositivos que visam a estimativa de glicemia de forma não invasiva, rápida e em tempo real, de forma contínua (Batra; Tomar; Kapoor, 2016).

### 3 CENÁRIO HISTÓRICO DA DIABETES

O papiro de Ebers é referido como o primeiro registro médico da diabetes, onde foi descrita como uma condição que apresentava como característica principal a emissão constante e frequente de urina. O antigo documento datava de 1.500 antes de Cristo (aC), mas foi apenas na Grécia antiga que o termo diabetes foi atribuído pela primeira vez, por Arateus (Gomes, 2016).

Durante o primeiro século depois de Cristo diferentes povos caracterizaram a urina dos pacientes como adocicada e era frequentemente associada ao mel, devido a alta concentração de moscas e formigas próximas a urina dos doentes. Foi apenas nos séculos XVII e XVIII que houveram provas práticas efetivas de que os pacientes eliminavam açúcar através da urina em formato de glicose, através de estudos propostos por Willis e Dobson (BLISS, 2007).

O início do século XVIII foi marcado pelo alto índice de mortalidade entre diabéticos semanas ou meses após o diagnóstico. A ausência de tratamento robusto e capaz de atender todos os casos, somada à falta de conhecimento sobre o mecanismo patológico da doença, agravava o cenário (Polonski, 2012).

Os anos ao longo dos séculos XIX e XX foram marcados por importantes estudos relacionados à fisiopatologia da diabetes, que posteriormente serviram como base para a elaboração de protocolos terapêuticos, clínicos e diagnósticos. Dez cientistas ganharam prêmios Nobel por estudos relacionados ao metabolismo da glicose e a fisiopatologia celular e metabólica da doença (Polonski, 2012).

A OMS e o Ministério da Saúde classificam a diabetes como uma desordem metabólica grave que cursa com hiperglicemia persistente e contínua. A alta de açúcar no sangue pode resultar da deficiência produtiva ou funcional de insulina, onde diferentes mecanismos fisiopatológicos são relacionados. As complicações mais associadas à descompensação da diabetes são oculares, vasculares, renais e cardíacas (BRASIL, 2006).

Existem três tipificações clássicas da doença: diabetes tipo 1, tipo 2 e gestacional. Por se tratar de uma doença multicausal, diversos fatores são considerados ao levar em consideração a possibilidade do diagnóstico de diabetes: histórico familiar, doenças preexistentes, hábitos alimentares e prática de atividade física são exemplos de fatores clínicos relevantes dentro do contexto clínico e laboratorial (Clarke; Foster, 2012).

A diabetes tipo 1, de caráter imunomediado e idiopático, é caracterizada por uma doença auto-imune, onde as células responsáveis pela produção de insulina são destruídas. A perda progressiva da produção de insulina endógena condiciona o uso de insulina terapêutica medicamentosa como recurso para controle da doença e sobrevivência do paciente (Rodacki et al., 2023).

Responsável por mais de 90% dos diagnósticos, a diabetes tipo 2 é relacionada à resistência à ação da insulina e está frequentemente relacionada com hábitos alimentares inadequados, sedentarismo, obesidade e ao envelhecimento (BRASIL, 2006).

A absorção, o uso e a distribuição de glicose podem ser afetados durante o estado

fisiológico especial instalado durante a gravidez, levando ao quadro hiperglicêmico gestacional, que pode evoluir espontaneamente para a cura ou persistir mesmo após o parto, com a instalação de um quadro de diabetes tipo 2 (Rodacki et al., 2023).

### 3.1 ESTATÍSTICAS GLOBAIS E ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os dados tratados nesta seção foram retirados da 10ª edição do atlas da Federação Internacional de Diabetes, publicado em 2021 pela própria instituição. O atlas traz dados de 2021 e trabalha com projeções estatísticas para os anos de 2030 e 2045 (FDI, 2021).

Em 2021 haviam 536,6 milhões pessoas convivendo com diabetes no mundo, representando mais de 9,5% da população mundial. Estatística que pode escalar para 11,2% em 2045, previsão em que mais de 780 milhões de pessoas estarão vivendo com a doença.

O atlas reporta que é estimado que mais de 6 milhões de pessoas tenham morrido em 2021 em decorrência da diabetes e suas complicações.

Mais de 8% da população diagnosticada vive em países desenvolvidos e com renda média anual alta - o consumo desenfreado de industrializados e *junk foods*, o estilo de vida acelerado e a exposição a fatores de risco como tabagismo e o consumo de bebidas alcóolicas são fatores que relacionam a alta morbidade da diabetes em países ricos.

As Américas Central e do Sul somam mais de 30 milhões de pessoas diabéticas. Estudos epidemiológicos estimam que até 2045 o número de pessoas diagnosticadas nessa mesma região suba para 49 milhões. Em 10 anos (2011-2021) o Brasil teve aumento de mais de 3 milhões de diabéticos, passando de 12,4 para 15,7 milhões, sendo o 5º país com maior incidência da doença no mundo.

### 3.2 FERRAMENTAS DE CONTROLE E MONITORAMENTO DA GLICEMIA

Os últimos 200 anos foram marcados por avanços significativos no contexto diagnóstico, clínico e medicamentoso da diabetes. O estabelecimento de que a forma de açúcar encontrada na urina era glicose aconteceu no início do século XIX, e a partir de então todos os esforços foram destinados ao desenvolvimento de técnicas que possibilitassem a identificação e quantificação de glicose em amostras biológicas (Polonski, 2012).

O controle glicêmico deve ser individualizado em pacientes diabéticos, levando em consideração a fase clínica do indivíduo. O controle de glicemia deve ser feito de forma ajustada, seguindo metas protocolares e dosagens eventuais para acompanhamento do quadro. De forma geral, um paciente diabético pode precisar medir a glicose entre 3 e 10 vezes ao dia (Pititto et al., 2023).

A manutenção glicêmica garante maior estabilidade e sobrevida aos pacientes, prevenindo complicações resultantes da descompensação diabética. A importância da glicemia como métrica de diagnóstico e tratamento da doença abrange áreas de desenvolvimento de diferentes técnicas qualitativas e quantitativas de investigação de glicose (Clarke; Foster, 2012).

Mudanças na glicemia são relacionadas a diferentes fatores como prática de exercícios, alimentação, sono, doenças preexistentes, medicamentos, etc., o que a torna uma métrica altamente variável, de difícil controle e predição (Zhang et al., 2021).

Há mais de 50 anos o primeiro glicosímetro foi desenvolvido. O dispositivo combinava química seca e fotometria para quantificar glicose no sangue. O desenvolvimento do instrumento foi um marco e abertura de caminhos para a criação e concepção de testes *point-of-care* (POC) e de automonitoramento da glicemia capilar (AMGC) como são conhecidos atualmente (Clarke; Foster, 2012).

Os dispositivos de medição de glicemia são divididos em gerações, baseadas na tecnologia analítica empregada na análise. Os glicosímetros de primeira geração são baseados em medidas puramente ópticas, a partir da reflectância. Instrumentos classificados como de segunda geração ainda utilizam a reflectância como metodologia analítica, mas já trabalham com modificação de amostras biológicas. Glicosímetros de terceira e quarta geração são os que estamos mais habituados atualmente, utilizando sensores enzimáticos e reações bioquímicas como método (Coster et al., 2000).

### **3.2.1 Dispositivos invasivos de estimativa da glicemia**

Instrumentos que realizam o MCG são imprescindíveis na rotina de pacientes diagnosticados com diabetes. Os dispositivos mais comuns de AMGC são os glicosímetros de terceira geração, baseados em um sensor e fitas reagentes (Coster et al., 2000).

Os dispositivos mais comuns e de maior facilidade de acesso para o AMGC são considerados invasivos, mesmo que de forma mínima, necessitando de pequenos volumes de sangue para a realização do teste. A amostra geralmente é obtida da polpa do dedo ou do lóbulo da orelha, mas punções na mão e antebraço também podem acontecer (Mahoney; Lim, 2012).

Mesmo depois de mais de meio século da invenção do primeiro glicosímetro, a necessidade de sangue para medir a concentração de glicose plasmática ainda gera polêmica. O volume de sangue é obtido através de punção via lanceta descartável, que utiliza pressão e uma agulha retrátil para realizar o furo (Klonoff; Perz, 2010).

Embora as lancetas sejam constantemente desenvolvidas e trabalhadas para conferir conforto e facilidade aos usuários, a utilização de agulhas e de amostras biológicas traz desvantagens físicas e clínicas, ambientais e econômicas (Klonoff; Perz, 2010).

A falta de comprometimento com padrões de segurança e higiene para o uso de dispositivos de MCG, tanto em casos de uso individual, como em sistemas de saúde, aumenta o risco de transmissão de patógenos, de infecções e contaminações cruzadas. Surto de contaminação pelo vírus da Hepatite B (HBV) são frequentes em casas de cuidado, instituições de longa permanência ou em residências com pacientes diabéticos, locais de uso frequente de dispositivos convencionais para AMGC (Mahoney; Lim, 2012).

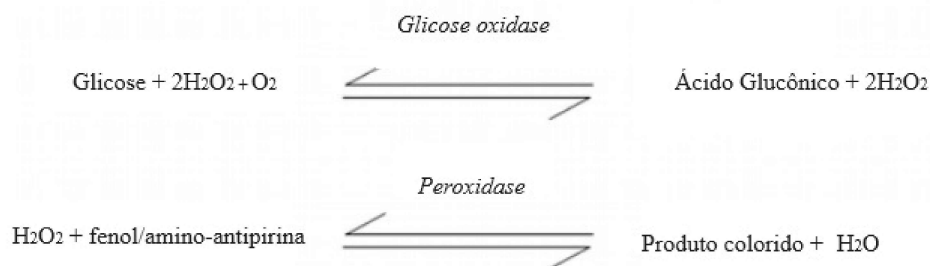
O sangue capilar obtido precisa entrar em contato com uma fita biossensora descartável, a qual é acoplada em um dispositivo, o glicosímetro propriamente dito. A quantificação é

feita a partir de uma reação de cor eletroenzimática, com formação de produto quantificável e proporcional à concentração de glicose plasmática. O resultado é visualizado em um leitor LCD em unidade de medida padrão (mg/dL) (Moodley et al., 2014).

Existem duas metodologias capazes de operar a reação eletroenzimática necessária para a quantificação do açúcar. As reações via glicose-oxidase e glicose-desidrogenase são empregadas por diferentes marcas no mercado comercial atualmente.

A reação via glicose-oxidase acontece em dois momentos e pode ser observada na Figura 5. O primeiro dele envolve a oxidação da glicose em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, catalisada por uma oxidase. A ação de uma peroxidase configura a segunda etapa, onde o peróxido de hidrogênio reage com fenol e amino-antipirina, caracterizando a reação de Trinder e formando um produto colorido (Moodley et al., 2014).

Figura 5 – Reação da glicose-oxidase.



Fonte: adaptado de (Moodley et al., 2014).

A etapa catalisada pela peroxidase não é específica para glicose, podendo ser reacional a outros componentes plasmáticos naturalmente presentes em amostras de sangue, como ácido ascórbico, bilirrubina e hemoglobina, por exemplo. A inespecificidade da reação enzimática pode fazer com que haja superestimação da glicemia por reações cruzadas (Burtis; Bruns, 2015).

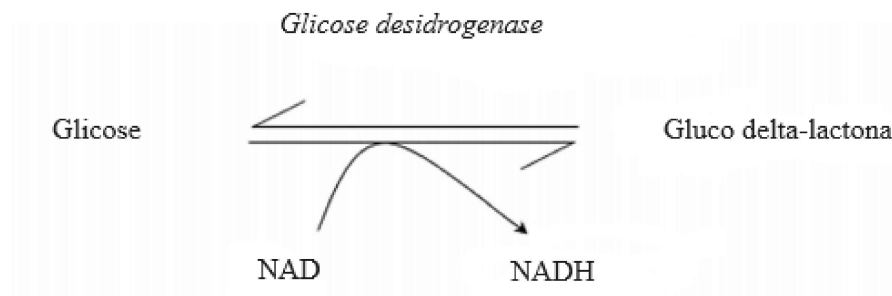
Por sua vez, a reação que acontece via glicose-desidrogenase acontece em um único momento, a reação é demonstrada na Figura 6. A glicose desidrogenase produz um intermediário reduzido, a gluco delta-lactona, e NADH, um intermediário que atua como doador e receptor de íons em reações de oxirredução. O NADH formado é passível de ser quantificado através de espectrofotometria (Moodley et al., 2014).

Ambas reações formam produtos coloridos que podem ser quantificados por metodologia óptica. A absorbância geralmente é obtida em 505nm para que envolve a enzima oxidase, enquanto 340nm é o comprimento de onda ideal para determinar a absorbância de NADH em reações catalisadas pela desidrogenase (Burtis; Bruns, 2015).

O glicosímetro mais vendido no Brasil, e um dos mais conhecidos mundialmente, a linha Accu-chek®, da marca Roche, utiliza a metodologia da glicose-desidrogenase, por eliminar a reação intermediária dependente de peroxidase, aumentando a especificidade e acurácia do teste. Alguns modelos do dispositivo podem ser observados na figura 7.



Figura 6 – Reação da glicose-desidrogenase.



Fonte: adaptado de (Moodley et al., 2014).

Figura 7 – Modelos comerciais do glicosímetro Accu-chek®.



Fonte: adaptado de (ROCHE, 2020).

Em 2018 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) cancelou o registro de mais de 10 glicosímetros por não cumprirem com o requisito internacional descrito na Norma da International Organization for Standardization (ISO) 15197:2013. Cinco desses não apresentavam a descrição de qual metodologia analítica era empregada nos testes (Brasil, 2018).

A ISO 15197:2013 especifica os requisitos fundamentais para qualquer sistema de monitoramento glicêmico. Estabelecendo que 95% dos testes realizados nos glicosímetros não podem apresentar variação glicêmica maior do que 15% quando comparadas aos testes padrão-ouro (Brasil, 2018).

Uma alternativa aos glicosímetros convencionais é o sistema de monitoramento tipo flash de glicose intersticial através do FreeStyle Libre®, da Abbott. O kit consiste em um sensor que fica acoplado à pele, que tem funcionalidade por 14 dias, e um leitor semelhante aos dispositivos convencionais (Blum, 2018). A figura 8 apresenta o sensor que é acoplado ao usuário, o leitor e um smartphone que podem ser utilizados para acompanhar as medições.

Figura 8 – Glicosímetro FreeStyle Libre



Fonte: adaptado de (ABBOTT, 2024).

O sensor é tido como minimamente invasivo, mesmo preservando o usuário das espetadas diárias da glicemia capilar, o biossensor é acoplado à pele através de uma agulha. A metodologia utilizada pelo FreeStyle Libre® também consiste em reação enzimática, desta vez, a partir do líquido intersticial (Blum, 2018).

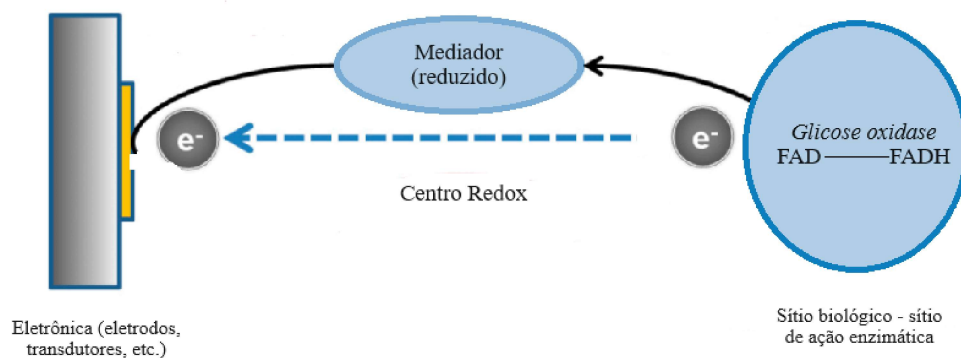
A tecnologia empregada pela Abbot é "*wired enzyme*", constituída de fases específicas e

contendo hidrogéis acoplados a eletrodos e transdutores. A primeira etapa também consiste na oxidação da glicose e formação de intermediário, neste caso, FAD é reduzido a FADH. O FADH atua como doador e receptor de elétrons, na segunda etapa, ele transfere os elétrons recebidos na primeira etapa aos centros de hidrogéis redox, que funcionam como mediadores comunicantes entre os centros de atividade enzimática e o eletrodo (Heller; Feldman, 2008).

A Figura 9 possibilita a visualização esquemática da função de conexão de mediadores entre o sítio de ação biológica à eletrônica do dispositivo. No caso da tecnologia empregada pela Abbot, o mediador reduzido é o FADH, produzido a partir da catálise da glicose pela glicose oxidase, e a eletrônica é o sensor que fica acoplado à pele do usuário.

A necessidade de intervenção com agulhas, seja para a obtenção de sangue capilar, seja para o contato de um sensor à pele, é um ponto que ainda não foi resolvido, mesmo após anos de desenvolvimento e melhorias acerca dos métodos de acompanhamento e manejo da diabetes.

Figura 9 – Tecnologia *wired enzyme*.



Fonte: adaptado de (Kim et al., 2015).

### 3.2.2 Dispositivos não-invasivos de estimativa da glicemia

Os desconfortos e desafios relacionados ao monitoramento clássico da glicemia abrem espaço para o desenvolvimento de dispositivos livres de agulha e com metodologia totalmente não-invasiva (Heinemann, 2008).

As limitações tecnológicas encontradas para a quantificação de glicose de forma não-invasiva envolvem diferentes parâmetros: metodologia analítica (óptica, elétrica, transdérmica, térmica), geometria do sensor, localização corporal do dispositivo, dentre outros (Moses et al., 2023).

Existem duas formas de monitoramento de glicose, a intermitente e a contínua. Enquanto a intermitente realiza medições dentro de intervalos estabelecidos, a contínua monitora em tempo real, sem interrupções. Monitores intermitentes oferecem valores precisos de medidas pontuais,

por outro lado, os monitores contínuos apresentam valores sequenciais em tempo real ou de forma retrospectiva (Klonoff, 2005).

O GlucoWatch® foi o primeiro monitor de glicemia classificado como não-invasivo aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) em 2001. O dispositivo apresentava forma comercial de relógio e operava como sensor baseado com iontoforese reversa e circuito amperométrico, quantificando a glicose a cada 10 minutos (Tierney et al., 2001).

Três tecnologias independentes faziam parte do GlucoWatch®. A iontoforese reversa era aplicada para a extração de glicose, processamento e análise da glicose extraída por biosensor amperométrico e o tratamento e conversão de dados para a leitura em display (Tierney et al., 2001).

A iontoforese é um método de difusão facilitada de medicamentos, por exemplo, através da aplicação de corrente elétrica de baixa intensidade. Por sua vez, é possível retirar substâncias do interstício de forma seletiva através da pele, sendo esta a iontoforese reversa (Rao; Glikfeld; Guy, 1993).

A glicose era extraída da pele através de um fluxo eletro-osmótico em direção ao cátodo ioneletrorético. Neste caso, uma corrente de 0,3 mA era aplicada durante 3 minutos. Foi comprovada que a quantidade de glicose extraída pelo método tinha relação com o nível de glicemia, em intervalo próximo a 20 minutos (Tamada; Bohannon; Potts, 1995).

Os eletrodos do biossensor consistiam em duas camadas. Uma trilha impressa serigrafada de platina e grafite e eletrodos de referência de prata e cloreto de prata. Discos de hidrogel serviam como eletrólito de disseminação iônica associado à glicose-oxidase (Rao; Glikfeld; Guy, 1993).

A quantificação de glicose acontecia a partir da formação do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) produzido na oxidação da glicose, reação que pode ser visualizada na Figura 5. A reação acontecia na superfície catalítica do eletrodo de platina.

O dispositivo necessitava de calibração individual a partir de um resultado de glicemia capilar, de responsabilidade do paciente. A glicemia capilar inserida servia como base referencial para o tratamento de dados, cálculo e conversão da corrente elétrica detectada nos eletrodos em dados de glicose propriamente ditos (Tamada; Bohannon; Potts, 1995).

O O GlucoWatch® apresentava problemas de exatidão e precisão, relacionados à natureza do método e inespecificidade de reação enzimática e pureza da amostra extraída por iontoforese reversa, além de ter sido associado a inúmeros casos de irritação cutânea. Ele foi retirado do mercado em 2007 (Correia, 2012).

Existe uma forte relação entre a glicose intersticial e a plasmática, no entanto, em alterações repentinas da glicemia dá-se o fenômeno chamado "*lag time*", um lapso de tempo, onde ocorre uma defasagem no equilíbrio da glicose plasmática e intersticial, portanto diferenças significativas entre dosagens intersticiais e plasmáticas podem ser identificadas em situações de hiper e hipoglicemia (Boyne et al., 2003).

A discordância entre glicose do interstício e plasmática em dados momentos é um fator

limitante para a modelagem de dispositivos baseados de forma exclusiva na técnica de extração intersticial. Atrasos em alertas e detecção de extremos de glicemia podem trazer consequências aos usuários (Correia, 2012).

Diferentes monitores baseados em sensores amperométricos surgiram após o GlucoWatch®, como o Minimed CGMS® e Minimed CGMSgold®. da Medtronic, atualizados em 2002. Os dispositivos também necessitavam de calibração individual, 4 vezes por dia, a partir de um valor de glicemia capilar. Os dispositivos da Medtronic tinham vida útil de 72h e não tinham alarme para hipo e hiperglicemia (Maia; Araujo, 2006).

O peróxido de hidrogênio também é um dos intermediários formados na reação da Figura 9 e ele pode ser oxidado por um ânodo de platina em hidrogênio, oxigênio e elétrons livres, o que é demonstrado na equação (7).



As quantificações de glicose por metodologias amperométricas são feitas de forma indireta. Nenhuma tecnologia analisa a molécula de glicose propriamente dita, todas elas fazem cálculos indiretos a partir de modelos que se baseiam no consumo de oxigênio, na formação ou decomposição do peróxido de hidrogênio (Zhang et al., 2021).

Alguns estudos visam aplicar a tecnologia empregada em óculos com sensores de lactato e potássio para a quantificação de glicose a partir do suor, com a modificação do sistema de sensores. O óculos tem canal bluetooth embutido para o envio dos dados. Um grande desafio nesse dispositivo é a quantidade de suor necessária, o uso de produtos cosméticos no rosto, os diferentes interferentes do suor e da pele (Gao et al., 2016).

É importante pontuar que o monitoramento de muitas variáveis é importante para considerar um sensor que de glicose no suor, visto que a sudorese é diferente entre indivíduos tanto por fatores internos, quanto por fatores externos como o nível de hidratação, regularidade alimentar e prática de atividade física, por exemplo (Llobregat et al., 2017).

Dados obtidos a partir de medições indiretas em reações de oxidação ou redução em superfícies de eletrodos precisam ser trabalhados e convertidos em dados glicêmicos de fato. Para isso, diversos algoritmos de processamento de sinais e dados foram criados a partir de modelos matemáticos. Os modelos levam em consideração variáveis plasmáticas e teciduais (Zhang et al., 2021).

Monitorar a glicemia através de modelos que levam em consideração o ambiente fisiológico traz maior segurança e confiabilidade ao algoritmo utilizado. Os modelos baseados na cinética fisiológica da glicose levam em consideração a ação da insulina, do glucagon, do uso de glicose e polímeros de glicose pelo organismo (Kovatchev; Breton; Cobelli, 2009).

## **4 DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS CLÍNICOS**

Este estudo foi submetido à apreciação do comitê de ética em pesquisa com seres humanos e foi aprovado sob o parecer nº 6.318.291, CAAE 69991423.5.0000.0118.

### **4.1 DELINEAMENTOS DO ENSAIO**

#### **4.1.1 População e amostra**

2 indivíduos saudáveis que se encaixavam nos critérios de inclusão e que não atendiam a nenhum critério de exclusão proposto no delineamento metodológico. Os critérios estão descritos nos itens 4.1.2 e 4.1.3 do presente documento.

O recrutamento dos voluntários(as) foi feito através de divulgação interna institucional aos alunos do programa de pós-graduação em engenharia elétrica (PPGEEL) da UDESC, em especial aos alunos do laboratório PETBIO. O recrutamento dos voluntários(as) foi feito por meio de correio eletrônico aos acadêmicos da instituição e de forma presencial através de divulgação no laboratório.

O recrutamento foi realizado em duas etapas. A primeira etapa baseada em divulgação do projeto, sensibilização e triagem do candidato. A divulgação foi física e presencial aos alunos do PPGEEL. O recrutamento individual e presencial se torna possível pela característica restrita e específica do grupo-alvo, facilitando o contato e aproximando os candidatos. Cada pessoa que demonstrou interesse em participar da pesquisa, após as ações de divulgação, recebeu todas as informações necessárias, incluindo o questionário de triagem.

Após a avaliação da elegibilidade do candidato levando em consideração os critérios de inclusão e exclusão, o candidato teve o retorno acerca de sua participação. Nessa segunda fase o agendamento da coleta de sangue venoso do voluntário foi realizado, seguindo calendário aprovado.

As coletas aconteceram em horário comercial e de acordo com o funcionamento do laboratório de análises clínicas Proll-Med, contratado para fazer as análises laboratoriais. Se fez necessário que o voluntário se afastasse temporariamente de atividades acadêmicas e/ou laborais para a participação. Entretanto, a flexibilidade na escolha de horários foi levada em conta para evitar prejuízos aos voluntários, mas quando necessário, a emissão de atestados e comprovantes de participação e comparecimento foram realizadas.

Os voluntários(as) responderam ao questionário da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) que, por sua vez, foi adaptado para esta pesquisa e pode ser visto no Apêndice (Brasil, 2020)

O questionário foi dividido em três seções, sendo a primeira dedicada a reapresentar pontos e informações importantes sobre o projeto de pesquisa ao candidato. A segunda seção visou coletar dados cadastrais e de contato do(a) voluntário(a) (nome, data de nascimento, documento de identificação, telefone e e-mail). Todas as informações pessoais fornecidas pelo

candidato foram regidas sob sigilo e foram utilizadas para cadastro do voluntário em banco de dados relacionado ao estudo em questão. A última seção do questionário está baseada em perguntas e respostas com o objetivo de identificar os fatores de risco e triar voluntários(as) de acordo com os critérios de inclusão e exclusão da pesquisa, apresentados a seguir.

#### **4.1.2 Critérios de inclusão**

1. Homens e mulheres saudáveis entre 18 e 50 anos.

#### **4.1.3 Critérios de exclusão**

1. Voluntários que não responderam ou responderam parcialmente o questionário de triagem;
2. Voluntários com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1, 2 ou gestacional em algum momento da vida;
3. Voluntários com diagnóstico de doenças autoimunes;
4. Voluntários com diagnóstico de outras doenças crônicas não transmissíveis;
5. Voluntárias gestantes, independente do tempo gestacional;
6. Voluntários com sintomas de mal-estar ou estado febril momentos antes da coleta de sangue venoso;
7. Voluntários que não cumprirem com o tempo de jejum mínimo de 8 e máximo de 12 horas.

### **4.2 MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS**

#### **4.2.1 Metodologia clínica: coleta e manejo das amostras**

Os dois voluntários foram submetidos à coleta de sangue venoso, que foi realizada por um flebotomista capacitado e seguindo as recomendações do Ministério da Saúde (Brasil, 2001). As recomendações Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso em sistema fechado também foram consideradas (Laboratorial, 2010).

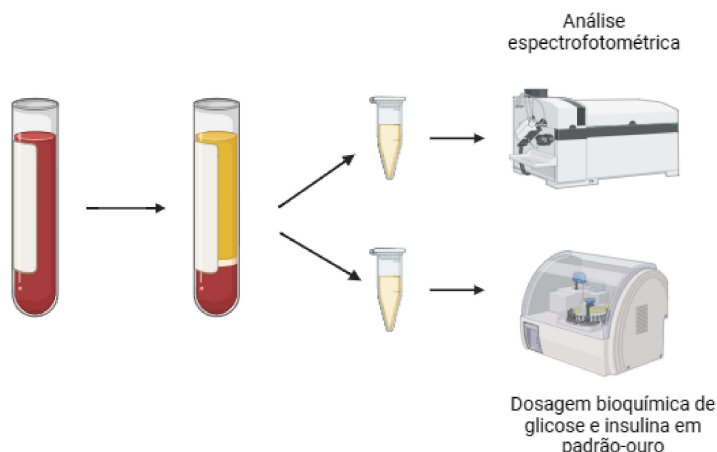
A coleta de sangue venoso foi realizada na fossa antecubital, realizada por punção a vácuo, como recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Foram coletadas 4 amostras de sangue total em tubo fluoretado por voluntário. As amostras foram destinadas à realização de um teste oral de tolerância à glicose (TOTG) adaptado às necessidades do estudo e para análises de comportamento óptico (Laboratorial, 2010).

A adaptação do TOTG foi feita para que a oscilação da glicemia pudesse ser observada de forma mais detalhada. Uma amostra foi coletada em jejum, considerada como o ponto 0, e mais três amostras foram coletadas de forma sequencial: 30 min, 60 min e 90 min após a ingestão

de 75g de glicose. As amostras de sangue total foram centrifugadas para a obtenção de plasma fluoretado.

Depois de centrifugadas, cada amostra foi dividida em duas alíquotas. A Figura 10 ilustra o fluxo pré-analítico e analítico das amostras. Cada alíquota foi destinada à análises quantitativas distintas que estão descritas na seção a seguir.

Figura 10 – Fluxo pré-analítico e analítico das amostras coletadas.



Fonte: A autora

#### 4.2.2 Metodologia laboratorial

Para a investigação do comportamento óptico das amostras o espectrofotômetro Shimadzu UV3600Plus. A análise foi realizada no Laboratório de Análise Instrumental (LAI) do departamento de química de UDESC.

A análise espectrofotométrica de absorbância das amostras foi feita a partir de varredura, com comprimentos de onda que foram de 700 a 1400nm. Cubetas de quartzo de 1mm de espessura foram utilizadas como caminho óptico.

A faixa de comprimentos de onda trabalhada levou em consideração interferentes plasmáticos conhecidos, como a albumina e diferentes globulinas - proteínas em maior quantidade no plasma. A albumina, proteína mais significativa e em maior quantidade do plasma, 3,5 a 5,2 g/dL em adultos, tem maior reatividade óptica entre 620 e 640 nm (Doumas; Watson; Biggs, 1971).

As globulinas são as proteínas não-albumina representantes de outras classes protéicas dentro da eletroforese de proteínas. Os principais representantes da classe são os anticorpos. As globulinas, em geral, reagem bem entre 430 e 450 nm (Neto et al., 2018).

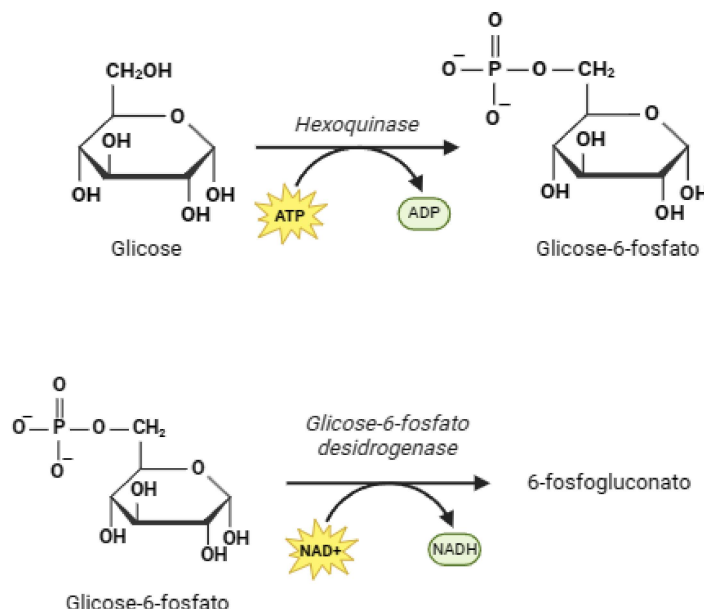
A quantificação dos analitos foi realizada em aparelho bioquímico automático comercial. A automação utilizada é o analisador bioquímico Cobas Integra Plus®, da marca Roche.

A quantificação de glicose foi feita através do método enzimático por hexoquinase e leitura espectrofotométrica em UV. O NADH formado na reação observada na Figura 11 é



proporcional à quantidade de glicose na amostra. Para cada mol de glicose-6-fosfato oxidado existe a produção de um mol de NADH. A absorbância é lida em 340 nm.

Figura 11 – Método da glicose hexoquinase.



Fonte: A autora

A concentração de glicose em unidade padrão (mg/dL) é obtida por cálculo através de reagente padrão. O reagente padrão tem concentração conhecida, nesse caso de 100 mg/dL. O cálculo pode ser feito de maneira direta a partir da absorbância da amostra e do padrão, demonstrado na equação (8).

Nas equações, AbsA é a absorbância da amostra em questão e AbsP é a absorbância do padrão.

$$Glicose = \frac{AbsA}{AbsP} \times 100 \quad (8)$$

A partir do fator de calibração (FC), o cálculo envolve duas etapas, representadas pelas equações (9) e (10), e também fornece a concentração de glicose em mg/dL.

$$FC = \frac{100}{AbsP} \quad (9)$$

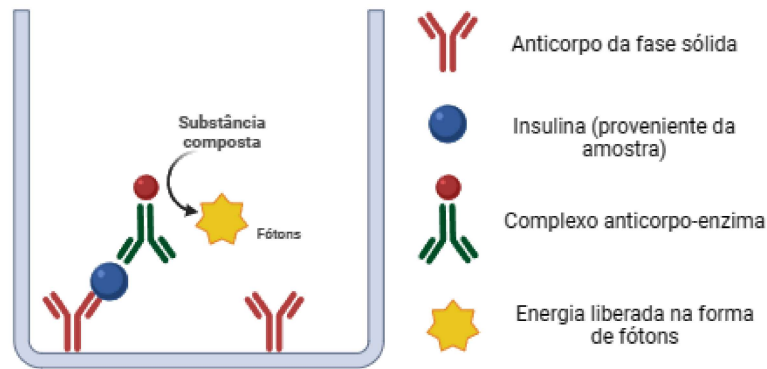
E para o cálculo de concentração final:

$$Glicose = AbsA \times FC \quad (10)$$

A dosagem de insulina foi realizada através de quimioluminescência, método imunoenzimático que possibilita identificação qualitativa e quantitativa de analitos. O teste consiste numa

fase sólida contendo um anticorpo específico para insulina. A adição da amostra do participante da pesquisa forma o complexo anticorpo-antígeno específico. A representação gráfica da fase final da quimioluminescência pode ser visualizada na Figura 12.

Figura 12 – Quimioluminescência.



Fonte: A autora

Para a quantificação, um anticorpo acoplado a uma enzima é adicionado. A enzima catalisa uma reação quebrando um composto em partes livres energéticas em forma de fótons. A produção de luz proveniente da reação é proporcional à quantidade de insulina na amostra e inicialmente ligada à fase sólida.

Os resultados dos instrumentos de análise foram plotados em planilhas elaboradas, no programa Microsoft Excel, utilizando a técnica de dupla digitação, técnica que visou evitar possíveis erros de transcrição. A análise qualitativa das variáveis sócio-demográficas também foi executada no programa.

O programa GnuPlot foi utilizado como ferramenta para a construção de dados adequados e correlacionáveis em modelos matemáticos, implementando variáveis e funções de análise das variáveis clínicas para determinação de correlação e significância entre os dados obtidos (absorbância, concentração de glicose e concentração de insulina).

A equação (5) é manipulada a partir do modelo de absorção de luz ditada pela Lei de Lamber-Beer, demonstrada na equação (11).

$$I = I_0 e^{-\alpha l c} \quad (11)$$

Num fluido com  $n$  substâncias opticamente ativas para o mesmo comprimento de onda, relacionando as equações (6), (5) e (11), temos que:

$$A = (\alpha_1 c_1 + \alpha_2 c_2 + \dots + \alpha_n c_n) l \quad (12)$$

Com base na literatura, é possível expressar a concentração de glicose e de insulina em termos do coeficientes de extinção molar do plasma, considerando o fluido remanescente (água,

sais, vitaminas, proteínas, componentes celulares, etc.), a própria glicose e insulina. A relação matemática pode ser vista na equação (13) (Nitzan; Engelberg, 2009).

$$\alpha = \alpha_g C_g + \alpha_i C_i + \alpha_f C_f \quad (13)$$

Onde:

$\alpha$  representa o coeficiente de extinção molar do plasma;

$\alpha_g$  o coeficiente de extinção molar da glicose;

$\alpha_i$  o coeficiente de extinção molar da insulina;

$\alpha_f$  o coeficiente de extinção molar do fluido remanescente; e,

$C_g$ ,  $C_i$  e  $C_f$  são as variáveis que representam a concentração de glicose, insulina e fluido na amostra, respectivamente.

Manipulando as equações (12) e (13), isolando as variáveis e fazendo as devidas substituições, temos que:

$$A_\lambda = \alpha_g C_g l + \alpha_i C_i l + \alpha_f C_f l \quad (14)$$

No caso da metodologia aplicada, o jejum da amostra foi considerada como branco, eliminando interferência de fluido remanescente, sendo a variação de absorbância entre as análises sendo originada a partir da mudança das concentrações de glicose e insulina na amostra, portanto considera-se:

$$\alpha_f C_f l = 0 \quad (15)$$

Reorganizando a equação (14), considerando a equação (15), temos:

$$A_\lambda = (\alpha_g C_g + \alpha_i C_i) l \quad (16)$$

Isolando os coeficientes de extinção e as variáveis de concentração, tem-se:

$$\frac{A_\lambda}{l} = (\alpha_g C_g + \alpha_i C_i) \quad (17)$$

Algumas adaptações das unidades de medida foram feitas para que as variáveis relacionadas à concentração ( $C_g$  e  $C_i$ ) ficassem com a mesma unidade e pudessem ser de fato aplicadas na mesma equação.

Existem duas unidades de medida convencionalmente utilizadas para a glicemia: mg/dL e mmol/L. Por padronização, neste trabalho, a escolha foi a utilização de mmol/L.

Os resultados das dosagens laboratoriais de glicose foram obtidos em mg/dL e o fator de conversão utilizado foi de 1 mg/dL = 0,0555 mmol/L.

As dosagens analíticas de insulina foram apresentadas em unidade de medida  $\mu\text{UI/mL}$ . Para a conversão de  $\mu\text{UI/mL}$  para  $\text{mmol/L}$  alguns passos foram tomados. Uma calculadora médica e farmacológica foi utilizada para transformar, inicialmente, 1UI de insulina em mg. A relação encontrada foi de que 1UI de insulina correspondem à 0,0347mg. E também, que  $1\mu\text{UI} = 0,001\text{mUI}$ .

A adaptação também contou com a conversão do mL da unidade de medida em dL, de forma inicial, onde  $1\text{mL} = 0,01\text{dL}$ . Com os dois primeiros passos de conversão, uma expressão de conversão matemática foi aplicada no Microsoft Excel, em duas etapas distintas:

- conversão de  $\mu\text{UI/mL}$  em  $\text{mg/dL}$ ;
- conversão secundária de  $\text{mg/dL}$  para  $\text{mmol/L}$  usando o fator de conversão 0,0555.

Retomando à equação (17), os dados experimentais obtidos foram:

- $A_\lambda$  obtida a partir da avaliação óptica de varredura em espectrofotômetro;
- $l$  que representa o caminho óptico ( $1\text{ mm} = 0,1\text{ cm}$ );
- $C_g$  concentração de glicose;
- $C_i$  concentração de insulina.

A partir do estabelecimento da equação (17) e das variáveis analíticas obtidas em metodologia analítica, as variáveis relacionadas aos coeficientes de extinção molar ( $\alpha_g$  e  $\alpha_i$ ) ficam como incógnitas matemáticas.

A apresentação dos resultados, a aplicação das fórmulas estabelecidas e a discussão acerca do comportamento óptico das amostras estão apresentados no próximo capítulo desta dissertação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados são referentes aos testes clínicos e laboratoriais de amostras de plasma humano obtidos de dois voluntários saudáveis. As características dos voluntários são descritas a seguir:

- Voluntária 1 (V1) - mulher, hígida, 26 anos;
- Voluntário 2 (V2) - homem, hígido, 36 anos.

Os voluntários foram submetidos às condições clínicas descritas no capítulo 4 do presente trabalho. A tabela 1 mostra os resultados laboratoriais obtidos a partir da dosagem de glicose e insulina nos voluntários V1 e V2.

Tabela 1 – Resultados laboratoriais de glicose e insulina para os voluntários V1 e V2.

Tempo (min)	Glicemia (mg/dL)	Insulina ( $\mu$ UI/mL)
V1		
0	97	17,87
30	150	91,55
60	194	205,80
90	139	234,20
V2		
0	90	10,66
30	128	136,50
60	101	56,61
90	89	34,16

Fonte: dados da pesquisa (2024).

As variações glicêmicas e insulínicas foram diferentes entre os voluntários. A regulação de picos glicêmicos a partir da excreção de insulina é comandada por vários mecanismos metabólicos, estes que são influenciados por variáveis inatas e externas, como sexo, idade, alimentação, prática de exercício físico, composição corporal, qualidade do sono, dentre outras (Faria et al., 2009).

A interpretação do TOTG da V1 no tempo de 60 minutos, de acordo com as diretrizes de classificação do diabetes da Sociedade Brasileira de Diabetes, apresenta características de um estágio de pré-diabetes e resistência à insulina (Rodacki et al., 2024).

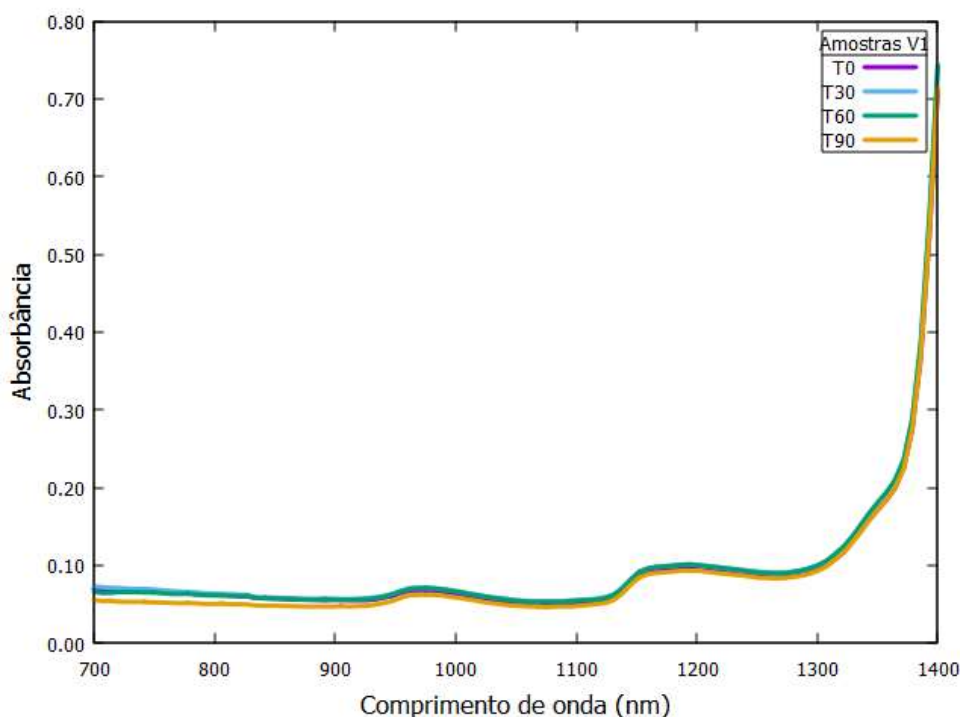
A interpretação dos dados laboratoriais de V1 vai de encontro com o questionário de triagem e anamnese clínica, onde a síndrome dos ovários policísticos é reportada, condição que cursa de forma natural com resistência à insulina e pré-diabetes.

O curso laboratorial dos resultados de glicemia de V1 não coloca em risco a condução de outros segmentos laboratoriais da pesquisa. A variação de glicemia e insulina durante a curva de

teste do mesmo voluntário, e entre os voluntários, é interessante para a condução das discussões dos resultados e para avaliar a reprodutibilidade do modelo proposto em diferentes cenários.

As figuras a seguir mostram os gráficos de comportamento óptico das amostras em relação ao comprimento de onda. A figura 13 mostra o gráfico do comportamento da absorbância em relação ao comprimento de onda das amostras do voluntário 1.

Figura 13 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda das amostras de V1.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

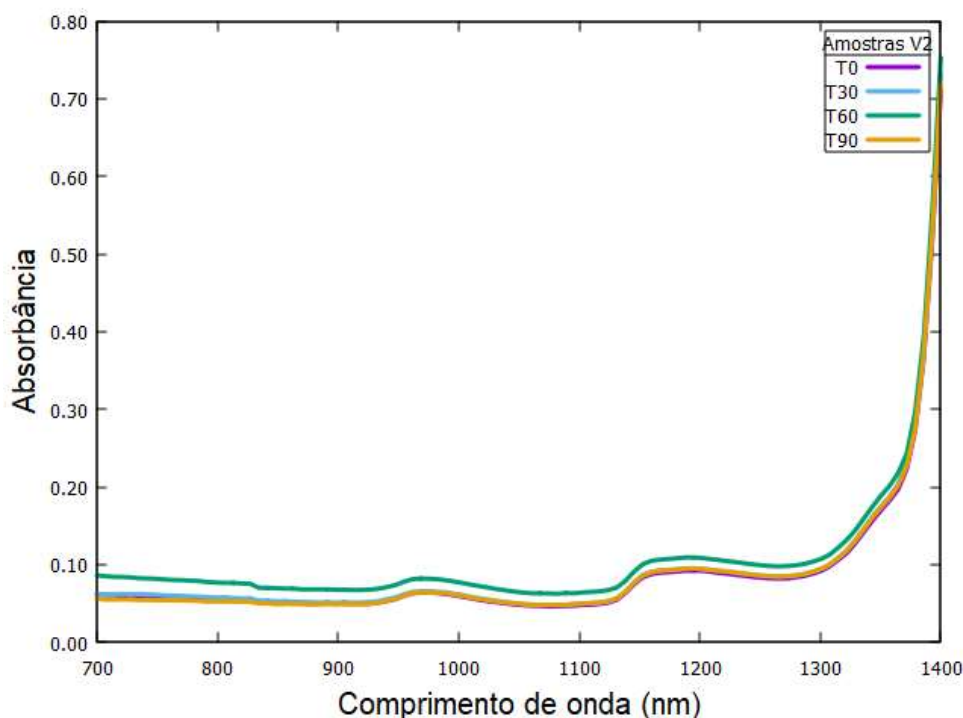
A Figura 14 mostra os resultados do comportamento da absorbância das amostras em relação ao comprimento de onda, agora do voluntário 2.

Os gráficos representados nas Figuras 13 e 14 são relevantes para demonstrar o comportamento óptico das amostras e os padrões de comportamento da absorbância ao longo do espectro utilizado. A segmentação da representação comportamental gráfica das amostras foi escolhida para melhor visualização das concordâncias e divergências entre as amostras dos diferentes voluntários.

Apesar do que foi exposto na Tabela 1, o comportamento óptico espectral entre as amostras dos dois voluntários é muito semelhante, o que pode sugerir que o plasma humano de indivíduos saudáveis tenha um comportamento espectral padrão, servindo como uma impressão digital óptica.

Além do comportamento espectral semelhante entre os voluntários, também é possível identificar dois picos de atividade óptica a partir da interpretação gráfica. Os picos acontecem em dois momentos da varredura de comprimentos de onda, o primeiro entre 900 e 1000 nm e o segundo entre 1100 e 1200 nm.

Figura 14 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda das amostras de V2.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os picos entre estas faixas de comprimento de onda demonstram uma possível atividade óptica máxima, uma vez que acontece com todas as amostras, independente das concentrações de glicose e insulina.

A identificação de picos nesta região do espectro (entre 900 e 1000 e entre 1100 e 1200 nm) corrobora com o que foi identificado em testes preliminares realizados no ano de 2023. Os testes foram realizados nas mesmas condições analíticas e com os mesmos critérios de elegibilidade.

A Figura 15 mostra os resultados obtidos para outros dois voluntários no ano de 2023 em testes preliminares do curso do mesmo estudo.

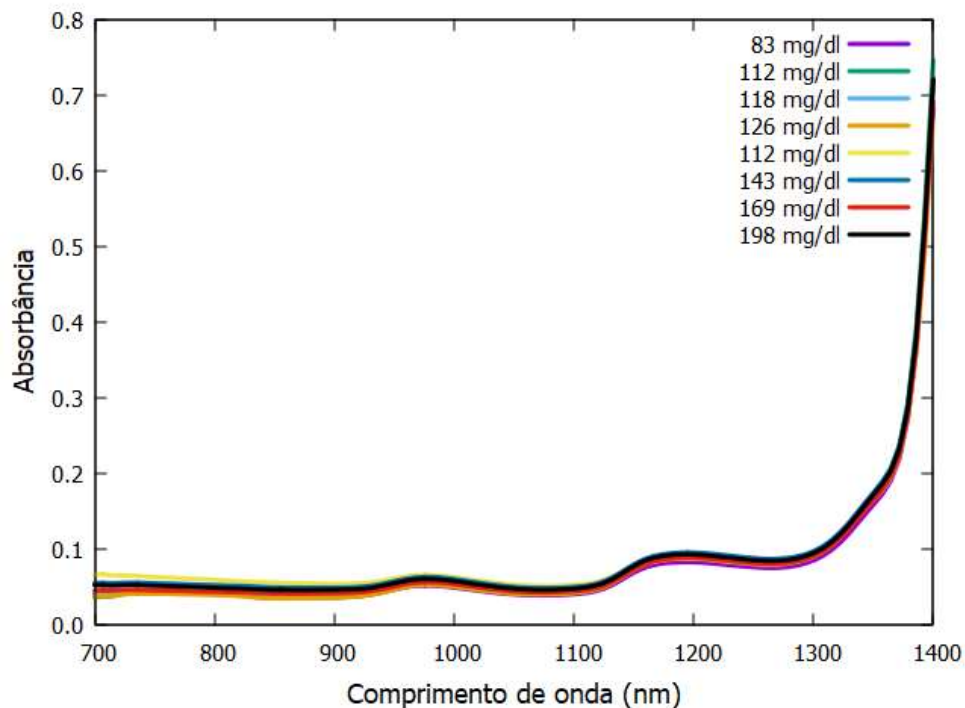
Os valores de absorbância obtidos com os testes primários, em 2023, também se apresentam de forma comportamental semelhante aos resultados obtidos com os testes em V1 e V2, reforçando o comportamento espectral padrão do plasma sanguíneo.

Para compreender melhor e de forma mais próxima o comportamento da absorbância nas diferentes amostras, 3 comprimentos de onda dentro do primeiro pico foram escolhidos para a representação gráfica: 965, 975 e 985 nm.

A Tabela 2 apresenta os dados laboratoriais e as absorbâncias nos referidos comprimentos de onda, para cada amostra e para cada voluntário.

A análise das colunas relacionadas aos comprimentos de onda 965 e 985nm permite identificar que os valores de absorbância não se repetem para V1. A mudança de absorbância entre as amostras, com diferentes tempos a partir da ingestão de açúcar, sugere que mudanças na

Figura 15 – Comportamento óptico da absorbância em relação ao comprimento de onda de amostras de plasma com 2 voluntários - testes preliminares de 2023.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 2 – Resultados laboratoriais e valores das absorbâncias em 965, 975 e 985 nm, para cada amostra, em V1 e V2.

Tempo (min)	Glicemia (mg/dL)	Insulina ( $\mu$ UI/mL)	Absorbância		
			965 nm	975 nm	985 nm
V1					
0	97	17,87	0,068	0,068	0,067
30	150	91,55	0,071	0,071	0,071
60	194	205,80	0,070	0,071	0,070
90	139	234,20	0,062	0,062	0,062
V2					
0	90	10,66	0,063	0,064	0,063
30	128	136,50	0,065	0,066	0,065
60	101	56,61	0,081	0,082	0,080
90	89	34,16	0,064	0,064	0,063

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

concentração de glicose e insulina interferem no comportamento óptico do plasma.

Em 975 e 985 nm, para o V2, os valores de absorbância para as amostras de T0 e T90 se repetem, o que é justificável, uma vez que os valores de concentração de glicose são muito próximos, sendo 90 mg/dL para T0 e 89 mg/dL para T90. Essa diferença de 1 mg/dL entre as concentrações de glicose entre T0 e T90 não é suficiente para alterar a absorbância da amostra



frente ao instrumento utilizado para as análises, o que sugere limitação técnica em relação à sensibilidade da instrumentação proposta.

De acordo com a lei de Beer e a proposta linear entre absorbância e concentração de analitos, soluções com maior concentração de solutos apresentam maior absorbância (Lima, 2013). A linearidade proposta pela lei de Beer não é observada entre o recorte analisado, como mostra a Tabela 2. A amostra T60 de V1 tem 44 mg/dL a mais de glicose e 114,25  $\mu$ UI/mL a mais de insulina do que quando comparada com a amostra T30 e, mesmo assim, a absorbância foi igual (975 nm) ou menor (965 e 985 nm) do que foi obtido na amostra com menores concentrações dos analitos.

Observando os resultados de V2, os picos de concentração de glicose e insulina aconteceram em T30, enquanto os maiores valores de absorbância foram vistos em T60, com diferenças de mais de 0,015 em absorbância quando as amostras são comparadas. Não é possível assumir de forma concreta que, nesse recorte de comprimentos de onda, há predominância comportamental óptica maior da glicose ou da insulina, uma vez que os picos de concentração e de absorbância não são concordantes.

Dois pontos principais precisam ser trazidos à discussão para sustentar o comportamento observado. Um deles assume que durante período intermediário entre as análises, outras moléculas participantes do processo de regulação de glicemia (hormônios, água, proteínas e demais sinalizadores celulares, por exemplo) tenham maior regência no plasma e funcionem como analitos interferentes no processo de incidência, absorção e transmissão de luz na amostra. Trabalhando com demais analitos, de diferentes concentrações, comportamentos e geometrias e que tem maior atividade em diferentes segmentos de espectro eletromagnético, possivelmente no recorte trabalhado, é de mais difícil visualização o comportamento puramente relacionado com insulina e glicose.

A secreção de insulina inibe algumas vias metabólicas, enquanto outras são estimuladas. As vias bioquímicas mais associadas à ação da insulina são de regulação entre síntese e degradação de polímeros de glicose, gorduras e proteínas. A regulação bioquímica envolve enzimas plasmáticas e celulares envolvidas na catálise de diferentes reações das vias metabólicas. O recrutamento de enzimas e o aumento de mediadores de biossinalização de cada via regulada pode ser um dos fatores de interferência no comportamento óptico de amostras (Carvalho; Zecchin; Saad, 2002).

Outro embasamento que deve ser levado em consideração é a classificação do sangue total como fluido não newtoniano. As diferenças de velocidade de fluxo e a formação de fluxo laminar contínuo podem interferir na forma em que os analitos fluem e se misturam no vaso, consequentemente interferindo em como os solutos se comportam no vaso durante a coleta das amostras (Steudner, 2012).

Para ampliar o espectro de interpretação dos resultados e a significância do comportamento óptico das amostras, um novo recorte de 3 comprimentos de onda foi feito, agora no pico que ocorre entre 1100 e 1200 nm nas Figuras 13 e 14.

A Tabela 3 traz os resultados laboratoriais e de fotometria desse novo recorte, para todas as amostras e todos os comprimentos de onda. Os comprimentos de onda investigados agora são 1135, 1145 e 1155 nm.

Tabela 3 – Resultados laboratoriais e valores das absorvâncias em 1135, 1145 e 1155 nm, para cada amostra, em V1 e V2.

Tempo (min)	Glicemia (mg/dL)	Insulina ( $\mu$ UI/mL)	Absorbância		
			1135 nm	1145 nm	1155 nm
V1					
0	97	17,87	0,061	0,077	0,088
30	150	91,55	0,066	0,082	0,094
60	194	205,80	0,065	0,081	0,093
90	139	234,20	0,059	0,074	0,086
V2					
0	90	10,66	0,058	0,074	0,085
30	128	136,50	0,059	0,076	0,088
60	101	56,61	0,074	0,090	0,102
90	89	34,16	0,060	0,076	0,087

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os valores de absorvância para cada comprimento de onda não se repetem para as diferentes amostras, padrão que também foi observado nos comprimentos de onda apresentados na Tabela 2, o que reforça que mudanças nas concentrações dos analitos exercem influência no padrão de comportamento óptico do plasma.

No novo recorte de comprimentos de onda, a linearidade proposta pela lei de Beer não é visualizada, onde, novamente, os maiores valores de absorvância não foram observados nas amostras com maiores concentrações de glicose e insulina.

Observando as amostras T0 e T90 dos dois voluntários para 1135 nm, o mesmo comportamento observado nos resultados mostrados no primeiro recorte para 968 nm. Para V1, T0 apresenta 97 mg/dL de glicose e 17,87  $\mu$ UI/mL de insulina para uma absorvancia de 0,061, enquanto a amostra T90, com concentrações significativamente maiores de glicose e insulina, apresentam absorvância menor, em 0,059.

Para V2, nas mesmas amostras, o padrão é o mesmo observado para o primeiro recorte. Glicemia semelhante e com pouca variação (90 mg/dL para T0 e 89 mg/dL para T90) e os valores de absorvância seguem pouca variação, possivelmente acompanhando a pouca variação na concentração de analito. E aqui, novamente, a maior concentração de glicose não foi seguida pelo maior valor de absorvância.

Nos comprimentos de onda investigados, dentro da metodologia proposta, não é possível assumir o protagonismo absorvente mais forte ser relacionado à glicose ou à insulina, principalmente pela ausência de correlação linear entre as variáveis propostas.

O não cumprimento da Lei de Beer e, por consequência, a falta de linearidade observada quando os resultados de absorbância são relacionados com as concentrações dos analitos, não permite que o modelo analítico proposto por Pedro e Bertemes Filho (2021a) seja implantado de forma padrão para dosagens de glicose.

A proposta da equação (17) foi baseada em estudos que consideravam a linearidade proposta pela Lei de Beer e quando aplicada ao presente estudo, perde o contexto de correlação linear das variáveis (NIETZAN; ENGELBERG, 2009; PEDRO; BERTEMES-FILHO, 2021a).

A proposta da determinação do coeficiente de extinção molar da glicose é a possibilidade de desenvolver um dispositivo baseado em modelagem matemática universal e que dispensaria calibração recorrente de parâmetros analíticos.

O cálculo de  $\alpha_g$  e  $\alpha_i$  a partir da equação (17) foi feito em software computacional para os 6 comprimentos de onda explorados nos resultados. Os coeficientes calculados estão dispostos na Tabela 4 e são provenientes do trabalho e modelagem da equação proposta. Os erros percentuais, arredondamentos, correções de notação científica e o cálculo de raízes a partir de  $\Delta$  e  $\Lambda$  foram realizados pelo software matemático.

As variáveis relacionadas à concentração foram trabalhadas em mmol/L como unidade padrão.

Tabela 4 – Coeficientes  $\alpha_g$  e  $\alpha_i$  em diferentes comprimentos de onda, para V1 e V2.

V1						
Coeficientes calculados						
	965 nm	975 nm	985m	1135 nm	1145 nm	1155 nm
$\alpha_g$	$-5,11 \times 10^{-3}$	$-5,27 \times 10^{-3}$	$-5,23 \times 10^{-3}$	$-5,39 \times 10^{-3}$	$-4,16 \times 10^{-3}$	$-3,48 \times 10^{-3}$
$\alpha_i$	$7,52 \times 10^{-5}$	$7,67 \times 10^{-5}$	$7,61 \times 10^{-5}$	$7,44 \times 10^{-5}$	$7,29 \times 10^{-5}$	$7,15 \times 10^{-5}$
V2						
$\alpha_g$	$-4,53 \times 10^{-3}$	$-4,52 \times 10^{-3}$	$-4,74 \times 10^{-3}$	$-4,91 \times 10^{-3}$	$-4,55 \times 10^{-3}$	$-4,20 \times 10^{-3}$
$\alpha_i$	$7,62 \times 10^{-5}$	$7,67 \times 10^{-5}$	$7,83 \times 10^{-5}$	$7,60 \times 10^{-5}$	$8,49 \times 10^{-5}$	$8,85 \times 10^{-5}$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os coeficientes  $\alpha_g$  e  $\alpha_i$  calculados tem valores diferentes para os diferentes comprimentos de onda, mesmo avaliando o mesmo indivíduo. Os coeficientes  $\alpha_i$  encontrados para o primeiro bloco de comprimentos de onda trabalhado (965 - 985) são próximos, quando falamos de valores para cada voluntário.

As bases exponenciais são iguais para cada coeficiente calculado. Os valores de  $\alpha_i$  são menores pois os cálculos de conversão da concentração de insulina de  $\mu\text{UI/mL}$  para mmol/L envolveram fatores de baixo valor.

A proposta inicial de acordo com o objetivo da presente dissertação era trabalhar com a modelagem matemática de uma equação baseada na lei de Beer para que o coeficiente de extinção molar da glicose pudesse ser determinado.

O esperado, se o comportamento padrão do plasma fosse concordante com a lei de Beer e seguindo a teoria proposta na literatura, é que os coeficientes fossem iguais, ou muito próximos com erro descartável, e que pudessem ser usados como coeficientes efetivos em dado comprimento de onda, sendo uma variável fixa a possível de ser aplicada em metodologia de cálculo de glicemia aparente por fotometria, em dispositivos não-invasivos.

A determinação do coeficiente de extinção molar universal para a glicose avançaria em passos largos o desenvolvimento de dispositivos não-invasivos de MCG baseados em metodologia óptica, visto que seria possível incluir a variável fixa em equação programada e o cálculo de glicemia seria possível a partir da medida de absorbância realizada pelo dispositivo.

A lei de Lambert-Beer tende a falhar em soluções concentradas e que tendem a ser dispersivas. O que pode auxiliar na compreensão dos resultados (Compri-Nardy; Stella; Oliveira, 2009). O caminho óptico utilizado ( $l = 1 \text{ mm}$ ) deixa a amostra com menor espaço livre, aumentando a compressão de solutos, não somente de glicose e insulina, e aumentando o poder dispersivo da amostra.

Considerando o que já discutido aqui, que cada resposta fisiológica tem uma velocidade e um padrão de excreção de moléculas reguladoras de glicemia, é possível supor que os valores de  $\alpha_g$  e  $\alpha_i$  possam ser diferentes entre indivíduos diferentes, mas que sejam iguais, ou próximos com erro descartável, para o mesmo indivíduo.

Uma possibilidade de teste da teoria é repetir os testes com os mesmos voluntários e nas mesmas condições, com as mesmas variáveis trabalhadas na metodologia e que os coeficientes possam ser calculados novamente, observando se o que foi proposto é válido.

O uso dos estudos baseados em lei de Beer como referência para o estabelecimento da modelagem matemática não devem ser utilizados quando a amostra de referência é o plasma humano, visto que não há proporção linear entre as variáveis de absorbância e concentração de glicose e insulina.

Com o que foi apresentado e discutido, há duas hipóteses que podem nortear futuras pesquisas e adaptações metodológicas:

- Pode existir outra molécula plasmática associada, de forma direta ou indireta, às variações de concentração de glicose e insulina e que tenha atividade óptica nos comprimentos de onda utilizados, interferindo de forma direta e contínua na relação de variação de absorbância e concentração dos analitos propostos.
- Deve-se considerar a possibilidade de padronização e estabelecimento de coeficientes de extinção molar individuais e relacionados à individualidade de cada pessoa. Para tanto, outra abordagem matemática precisa ser trabalhada, excluindo a linearidade de resposta e considerando a hipótese anterior.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo do comportamento óptico da glicose e da insulina é uma boa ferramenta para identificar padrões de comportamento e picos de atividade óptica dentro do espectro proposto.

Apesar de ser uma metodologia efetiva, a pura compreensão de padrões de comportamento em espectro óptico não é suficiente para entender o padrão absorptivo, dispersivo e reflexivo do plasma humano, visto que a amostra não segue o esperado e declarado pela lei de Beer.

A complexidade do plasma humano, de seus constituintes, o dinamismo plasmático em cada segmento de resposta fisiológica e a classificação do sangue como um fluido não newtoniano corroboram para resultados variantes e não-padronizados. Não foi possível assumir se, nos comprimentos de onda utilizados, a influência óptica é mais fortemente relacionada à glicose ou insulina.

A metodologia clínica e laboratorial proposta é funcional e adequada para a obtenção de amostras e resultados de forma segura e com mínima interferência humana e instrumental.

Mesmo que a equação proposta não seja ideal, a metodologia possibilita explorar o comportamento óptico do plasma em diferentes comprimentos de onda e em diferentes momentos fisiológicos, com diferentes amostras.

### 6.1 CONCLUSÃO

Não foi possível modelar a concentração de glicose a partir da equação matemática proposta no estudo.

A variação de absorbância em resposta à mudanças na concentração de glicose e insulina pode ser investigada pelo modelo proposto, mas não de forma linear.

A equação proposta é funcional para o cálculo proposto a partir dos resultados obtidos, mas ela não é válida de forma analítica e metodológica, uma vez que foi baseada em literatura que segue o padrão proposto pela lei de Beer.

### 6.2 TRABALHOS FUTUROS

Os resultados da pesquisa não encerram a empregabilidade dos dispositivos não invasivos de medição de glicose baseados em fotometria. A compreensão da dinâmica do plasma humano abre caminhos para novas modelagens analíticas.

Uma nova rodada de testes com a mesma metodologia, mas com expansão amostral, para observar se o padrão comportamental observado nos resultados é válido para mais indivíduos testados.

É imprescindível compreender a resposta fisiológica em picos glicêmicos, eventualmente expandir os analitos envolvidos, além da própria glicose e insulina, para que um padrão de seguimento seja encontrado e uma nova modelagem matemática seja proposta, sem seguir de forma linear a lei de Beer, mas que envolva as variáveis analíticas estabelecidas.

Uma forma de validar o pensamento estabelecido a partir do cálculo dos coeficientes é a repetição do teste com os mesmos voluntários e nas mesmas condições. Com a obtenção de novos resultados e novos cálculos de coeficientes, será possível observar se  $\alpha_g$  e  $\alpha_i$  possam ser estabelecidos de forma fixa para cada indivíduo, propondo a possibilidade de calibração individual baseada nos coeficientes calculados.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT. Freestyle libre. 2024. Disponível em: <https://www.freestyle.abbott/br-pt/blog/saiba-mais-sobre-as-novidades-do-freeStyle-libre-2-plus.html>. Acesso em: 13 set. 2024. Citado na página 29.
- ANDRADE, Luis. **Sistemas de medição para oximetria de pulso**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2009. Dissertação de Mestrado. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/912/1/CT\\_CPGEI\\_M\\_Andrade%2c%20Luiz%20Augusto%20Kalva%20de\\_2009.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/912/1/CT_CPGEI_M_Andrade%2c%20Luiz%20Augusto%20Kalva%20de_2009.pdf). Acesso em: 24 mai. 2022. Citado na página 23.
- ATKINS, P. **Physical Chemical**. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 1994. Citado 4 vezes nas páginas 17, 18, 20 e 22.
- AZEVEDO, Aissa; SOUSA, Anderson; CASTRO, Tiago. Espectroscopia óptica de baixo custo: uma estratégia para a introdução de conceitos de física quântica no ensino médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 41, n. 4, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbef/a/vHfts85vGQtRvwvqfpyjNFG/?lang=pt>. Acesso em: 25 abr. 2024. Citado na página 17.
- BAGNATO, Vanderlei; PRATAVIEIRA, Sebastião. Luz para o progresso do conhecimento e suporte da vida. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 37, n. 4, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbef/a/CTqgVJkYq9YCVNvx5ZNfKQk/#>. Acesso em: 22 abr. 2024. Citado na página 17.
- BATRA, Padma; TOMAR, Reena; KAPOOR, Rajiv. Challenges and trends in glucose monitoring technologies. **ADVANCEMENT IN SCIENCE AND TECHNOLOGY: Proceedings of the 2nd International Conference on Communication Systems**, 2016. Disponível em: <https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/1715/1/020060/584657/Challenges-and-trends-in-glucose-monitoring?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 16 out. 2022. Citado 2 vezes nas páginas 14 e 23.
- BLISS, Michael. **The Discovery of Insulin**: twenty-fifth anniversary edition. 25. ed. Chicago: University of Chicago press, 2007. Citado na página 24.
- BLUM, Alyson. Freestyle libre glucose monitoring system. **American Diabetes Association: clinical diabetes**, v. 36, n. 2, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5898159/>. Acesso em: 6 dez. 2023. Citado na página 29.
- BOYNE, Michael et al. Timing of changes in interstitial and venous blood glucose measured with a continuous subcutaneous glucose sensor. **ADA: Diabetes**, v. 52, n. 11, 2003. Disponível em: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/52/11/2790/12731/Timing-of-Changes-in-Interstitial-and-Venous-Blood>. Acesso em: 03 abr. 2022. Citado na página 31.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Técnicas para coleta de sangue. 2001. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/0108tecnicas\\_sangue.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/0108tecnicas_sangue.pdf). Acesso em: 06 mar. 2022. Citado na página 34.
- BRASIL, Ministério de Saúde. **Cadernos de atenção básica: diabetes mellitus**. 16. ed. Brasília: Editora MS, 2006. Citado na página 24.

BRASIL, Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. 2020. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel\\_brasil\\_2019\\_vigilancia\\_fatores\\_risco.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf). Acesso em: 18 mar. 2022. Citado na página 33.

BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA. Cancelado registro de 16 modelos de glicosímetros. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/cancelado-registro-de-16-modelos-de-glicosimetros>. Acesso em: 20 mar. 2024. Citado na página 29.

BURTIS, Carl; BRUNS, David. **Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnosis**. 7. ed. Missouri: Elsevier, 2015. Citado na página 27.

CARVALHEIRA, Jose; ZECCHIN, Henrique; SAAD, Mario. Vias de sinalização da insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabologia**, v. 46, n. 4, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/RpxWg3ZnBgR39nXW8zdQxHb/?format=html#>. Acesso em: 28 set. 2024. Citado na página 44.

CISTERNAS, Jose; VARGA, Jose; MONTE, Osmar. **Fundamentos de Bioquímica Experimental**. São Paulo: Atheneu, 2005. Citado na página 22.

CLARKE, S; FOSTER, J. A history of blood glucose meters and their role in self-monitoring of diabetes mellitus. **British Journal of Biomedical Science**, v. 69, n. 2, p. 83–93, 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09674845.2012.12002443>. Acesso em: 20 ago. 2023. Citado 3 vezes nas páginas 24, 25 e 26.

COMPRI-NARDY, Mariane; STELLA, Mércia; OLIVEIRA, Carolina. **Práticas de Laboratório de Bioquímica e Biofísica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Citado na página 47.

CORREIA, Magna. **SISTEMAS DE MONITORIZAÇÃO CONTÍNUA DA GLICOSE, NA DIABETES MELLITUS**. Dissertação (Mestrado) — Faculdade de Medicina da Faculdade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2012. Dissertação de mestrado. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/handle/10316/82827?locale=pt>. Acesso em: 05 abri. 2022. Citado 2 vezes nas páginas 31 e 32.

COSTER, S et al. Monitoring blood glucose control in diabetes mellitus: a systematic review. **Health Technology Assessment**, v. 4, n. 12, 2000. Disponível em: <https://www.journalslibrary.nihr.ac.uk/hta/hta4120#/abstract>. Acesso em: 04 jul. 2022. Citado na página 26.

DOUMAS, Basil; WATSON, W; BIGGS, Homer. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica Chimica Acta**, v. 31, n. 1, 1971. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0009898171903652>. Acesso em: 20 ago. 2023. Citado na página 35.

FARIA, Eliane et al. Correlação entre variáveis de composição corporal e metabólica em adolescentes do sexo feminino. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 93, n. 2, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/x7yxCVr6r9tfKkcJk4RgPZk/?lang=pt#>. Acesso em: 13 jul. 2024. Citado na página 40.



FDI, International Diabetes Federation. **IDF Atlas 2021 - 10th edition**. 10. ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2021. Disponível em: [https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/?dlmodal=active&dlsrc=https%3A%2F%2Fdiabetesatlas.org%2Fidfawp%2Fresource-files%2F2021%2F07%2FIDF\\_Atlas\\_10th\\_Edition\\_2021.pdf](https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/?dlmodal=active&dlsrc=https%3A%2F%2Fdiabetesatlas.org%2Fidfawp%2Fresource-files%2F2021%2F07%2FIDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf). Acesso em: 10 nov. 2022. Citado 2 vezes nas páginas 14 e 25.

FERNANDES, Nilson et al. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no sistema Único de saúde, Brasil, 2018. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, DC, v. 44, n. 32, p. 1;7, 2018. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51945>. Acesso em: 11 nov. 2022. Citado na página 14.

GAO, Wei et al. Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis. **Nature**, v. 529, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature16521>. Acesso em: 09 jul ago. 2022. Citado na página 32.

GOMES, Marília. Diabetes: recordando uma história. **Revista HUPE**, v. 14, n. 4, 2016. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/20069>. Acesso em: 29 ago. 2023. Citado na página 24.

HARRIS, Daniel. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. Citado na página 19.

HEINEMANN, Lutz. Finger pricking and pain: A never ending story. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 2, n. 5, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2769798/>. Acesso em: 16 mai. 2023. Citado na página 30.

HELLER, Adam; FELDMAN, Ben. Electrochemical glucose sensors and their applications in diabetes management. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 7, 2008. Disponível em: <https://pubs-acsc.org.ez74.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1021/cr068069y>. Acesso em: 14 nov. 2022. Citado na página 30.

KIM, Eunkyong et al. Chitosan to connect biology to electronics: Fabricating the bio-device interface and communicating across this interface. **Polymers**, v. 7, n. 1, 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/7/1/1>. Acesso em: 09 dez. 2023. Citado na página 30.

KLONOFF, David. Continuous glucose monitoring: roadmap for 21st century diabetes therapy. **ADA: Diabetes Care**, v. 28, n. 5, 2005. Disponível em: <https://diabetesjournals.org/care/article/28/5/1231/27766/Continuous-Glucose-MonitoringRoadmap-for-21st>. Acesso em: 23 abr. 2022. Citado na página 31.

KLONOFF, David; PERZ, Joseph. Assisted monitoring of blood glucose: Special safety needs for a new paradigm in testing glucose. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 4, n. 5, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2956804/>. Acesso em: 19 set. 2022. Citado na página 26.

KOVATCHEV, Boris; BRETON, Marc; COBELLI, Claudio. In silico preclinical trials: A proof of concept in closed-loop control of type 1 diabetes. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 1, 2009. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/193229680900300106>. Acesso em: 20 jun. 2022. Citado na página 32.

LABORATORIAL, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial para Coleta de**

**Sangue Venoso**. 2. ed. Tamboré, São Paulo: Brasil: Editora Manole, 2010. Disponível em: [https://controllab.com/wp-content/uploads/guia\\_coleta\\_sangue.pdf](https://controllab.com/wp-content/uploads/guia_coleta_sangue.pdf). Acesso em: 06 mar. 2022. Citado na página 34.

LAHA, Soumyasanta et al. A concise and systematic review on non-invasive glucose monitoring for potential diabetes management. **Biosensors**, v. 12, n. 965, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6374/12/11/965>. Acesso em: 16 set. 2023. Citado na página 23.

LIMA, Luis. Lei de lambert-beer. **Revista de Ciência Elementar**, 2013. Disponível em: <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2013/047/>. Acesso em: 06 mai. 2024. Citado 4 vezes nas páginas 19, 20, 21 e 44.

LLOBREGAT, A et al. A stretchable and screen-printed electrochemical sensor for glucose determination in human perspiration. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 91, n. 15, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956566317300581>. Acesso em: 10 jul. 2022. Citado na página 32.

MAHONEY, John; LIM, Christine. Effect of disinfectants on glucose monitors. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 6, n.1, 2012. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/epdf/10.1177/193229681200600111>. Acesso em: 11 set. 2022. Citado na página 26.

MAIA, Frederico; ARAUJO, Levimar. Impacto do sistema de monitorização contínua da glicose em pacientes diabéticos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 6, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/BcLhnmBZjNWbqW5byKxjgXx/?lang=pt>. Acesso em: 23 abr. 2022. Citado na página 32.

MARCZENKO, Zygmunt. **Spectrophotometric Determination of Elements**. Chinchester: Ellis Horwood, 1976. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.

MOODLEY, Nareshni et al. Historical perspectives in clinical pathology: a history of glucose measurement. **Journal of Clinical Pathology**, v. 65, n. 4, p. 258–264, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25568429/>. Acesso em: 20 ago. 2023. Citado 2 vezes nas páginas 27 e 28.

MOSES, Jeban et al. Non-invasive blood glucose monitoring technology in diabetes management: review. **MHealth**, v. 10, n. 9, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38323150/>. Acesso em: 15 fev. 2024. Citado na página 30.

MOTTA, Valter. **Bioquímica clínica para o laboratório clínico: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2005. Citado na página 22.

NETO, Campo et al. Proteinograma e concentração sérica de iga em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pyb/a/bhLnw4YQkzRXJXK9S5xLNFr/?lang=pt#>. Acesso em: 20 ago. 2023. Citado na página 35.

NITZAN, Meir; ENGELBERG, Shlomo. Three-wavelength technique for the measurement of oxygen saturation in arterial blood and in venous blood. **Journal of biomedical optics**, v. 14, n. 2, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19405774/>. Acesso em: 08 set. 2023. Citado na página 38.

OLIVEIRA, Marcus. Aplicações de estudos bioquímicos quantitativos em ciências biológicas e da saúde. **Revista UNIARAGUAIA**, v. 2, n. 2, 2012. Disponível em: <https://sipe.uniaraaguaia.edu.br/index.php/REVISTAUNIARAGUAIA/article/view/54>. Acesso em: 16 mai. 2024. Citado na página 22.

PEDRO, Bruna; BERTEMES-FILHO, Pedro. Blood glucose detection using 3-leds: Analytical model. **Revista Brasileira de Física Médica**, v. 15, 2021. Disponível em: <https://www.rbfm.org.br/rbfm/article/view/613>. Acesso em: 02 abr. 2022. Citado na página 14.

PEDRO, Bruna; BERTEMES-FILHO, Pedro. Glucose detection of ringer-lactate solution using electrical bioimpedance: preliminary results. **Journal of Physics: Conference Series**, México, p. 9, 2021. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/2008/1/012003>. Acesso em: 02 out. 2022. Citado na página 14.

PITITTO, Bianca et al. Metas no tratamento do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/metas-no-tratamento-do-diabetes/>. Acesso em: 21 abr. 2024. Citado na página 25.

POLONSKI, Kenneth. The past 200 years in diabetes. **The New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 14, p. 1342–1340, 2012. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMr1110560>. Acesso em: 20 ago. 2023. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 25.

PRATAVIEIRA, Sebastião et al. Optical imaging as auxiliary tool in skin cancer diagnosis. **Skin cancers - Risk Factors, Prevention and Therapy**, 2011. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/23034#>. Acesso em: 10 abr. 2024. Citado na página 19.

RAO, G; GLIKFELD, P; GUY, R. Reverse iontophoresis: development of a noninvasive approach for glucose monitoring. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 12, 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8302761/>. Acesso em: 29 mar. 2022. Citado na página 31.

REITZ, John; MILFORD, Frederick; CHRISTY, Robert. **Fundamentos da Teoria Eletromagnética**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Campus, 1982. Citado na página 18.

ROCHE. Monitores de glicemia. 2020. Disponível em: <https://www.accu-check.com.br/monitores-de-glicemia>. Acesso em: 13 set. 2024. Citado na página 28.

RODACKI, Melanie et al. Diagnóstico de diabetes mellitus. **SBD - Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2024. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-de-diabetes-mellitus/#citacao>. Acesso em: 13 jul. 2024. Citado na página 40.

RODACKI, Melanie et al. Classificação do diabetes. **Classificação do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/classificacao-do-diabetes/#citacao>. Acesso em: 11 abr. 2024. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 25.

SANTOS, Fabio et al. O espectro eletromagnético. **Cadernos Macambira**, Serrinha, v. 4, n. 1, p. 60–125, 2018. Disponível em: <https://revista.lapprudes.net/index.php/CM/article/download/415/406/1588>. Acesso em: 10 nov. 2023. Citado na página 19.

STEUDNER, Annie. **ESTUDO DA VISCOSIDADE DO SANGUE**: Quantidade de amostra necessária À obtenção da medida. Dissertação (Mestrado) — Universidade

Estadual Paulista, Rio Claro, 2012. Trabalho de Conclusão de Curso. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/7b5b56b0-8bab-4cff-a457-63b7d0c209c2/content#:~:text=O%20sangue%20%C3%A9%20considerado%20um,CONLEY%20in%20MOUNTCASTLE%2C%201978](https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/7b5b56b0-8bab-4cff-a457-63b7d0c209c2/content#:~:text=O%20sangue%20%C3%A9%20considerado%20um,CONLEY%20in%20MOUNTCASTLE%2C%201978))). Acesso em: 12 jul. 2023. Citado na página 44.

TAMADA, J; BOHANNON, N; POTTS, R. Measurement of glucose in diabetic subjects using noninvasive transdermal extraction. **Nature Medicine**, v. 1, n. 11, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7584995/>. Acesso em: 29 mar. 2022. Citado na página 31.

TIERNEY, M et al. Clinical evaluation of the glucoWatch biographer: a continual, non-invasive glucose monitor for patients with diabetes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 16, n. 9-12, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11679237/>. Acesso em: 16 mar. 2022. Citado na página 31.

TIPLER, Paul; LLEWELIN, Ralph. **Física moderna**. Barueri, São Paulo: LTC Editora, 2010. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 22.

VASCONCELOS, Nadja Maria. **Fundamentos de Química Analítica Quantitativa**. 2. ed. Ceará: EdiUECE, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 21 e 22.

VOET, D; VOET, J. **Biochemistry**. 2. ed. New York: John Wiley and Sons, 1995. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 20.

ZHANG, Yaguang et al. A review of biosensor technology and algorithms for glucose monitoring. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 35, n. 8, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056872721001070>. Acesso em: 19 mar. 2022. Citado 3 vezes nas páginas 14, 26 e 32.

ZILIO, Sérgio. **Óptica moderna: fundamentos e aplicações**. 1. ed. São Carlos: Fotônica - IFSC/USP, 2017. Disponível em: <https://www.livrosabertos.abcd.usp.br/portaldelivrosUSP/catalog/book/96>. Citado na página 17.