

Monitoração contínua da glicose intersticial em cães saudios

Karina Casagrande FERREIRA¹;

Márcia Marques JERICÓ²;

Achille Marcelo de PIETRO¹;

Elídia Zotelli dos SANTOS¹;

Lilium SEWASTJANOW¹;

Talita LEITE¹;

Juliana BAPTISTA³

Rua Antonio Estigarribia, 130
CEP 02556-030. São Paulo/SP, Brasil
✉ karina.casagrande@outlook.com
☎ (11) 3857-2586 / (11) 9824-24950

Continuous monitoring of interstitial glucose in healthy dogs

Resumo

A manutenção da glicose corpórea em níveis adequados é primordial para o controle da homeostase, oferecendo substrato energético fundamental para o bom funcionamento orgânico. Para a mensuração da glicose corpórea, estão disponíveis técnicas de avaliações portáteis e laboratoriais. Assim, visando a futuros estudos clínicos das variações da glicose corpórea em cães, objetivou-se observar a exequibilidade de um sistema de monitoramento contínuo da glicose intersticial denominado CGMS® (Continuous Glucose Monitoring System, Sistema Guardian Real-Time®/Medtronic /E.U.A.). O grupo de estudo foi composto por oito cães clinicamente hígidos, e todos os animais estudados apresentaram os maiores valores de glicose intersticial durante o processo de contenção e obtenção da amostra de sangue venoso para a calibração do aparelho, e os menores valores durante o período noturno devido à ausência de manipulação. Também foi observado que a comparação da glicose venosa e intersticial, realizadas em um mesmo momento, apresentou uma boa concordância entre si. Os valores de mediana de glicose obtidos via venosa foram 82,5mg/dL; 81mg/dL; 80mg/dL; 78mg/dL; 86,5mg/dL; 83mg/dL; 84mg/dL; 99,5mg/dL. Já as que foram avaliadas pelo CGMS®, corresponderam a 77mg/dL; 77mg/dL; 69mg/dL; 80mg/dL; 81,5mg/dL; 76mg/dL; 52,5mg/dL; e 86mg/dL. Houve situações pontuais de não registro de dados por remoção do sensor e de reação cutânea inflamatória leve no local de fixação. Os resultados obtidos confirmaram a eficácia do CGMS® na avaliação da glicose intersticial em âmbito doméstico e assistido, evidenciando, também, a necessidade de treinamento do proprietário quanto ao manuseio do aparelho.

Summary

The maintenance of body glucose in proper levels is of paramount importance to the homeostasis control, offering a fundamental energetic substrate for the proper organic performance. For the purposes of measuring body glucose levels, there are available portable and laboratory assessment techniques. Therefore, aiming at future clinical trials on body glucose variation in dogs, it had the purpose of observing the feasibility of a continuous interstitial glucose monitoring system named CGMS® (Continuous Glucose Monitoring System, Guardian Real-Time System/Medtronic/U.S.A.). Eight clinically healthy dogs composed the study group and all of them presented the highest interstitial glucose values during the contention and obtaining process of venous blood samples for the device calibration and the lowest values during the night period due to the lack of manipulation. It was also performed the comparison of venous and interstitial glucose, evaluated at the same moment and presenting a good agreement between themselves. The median values of glucose obtained from venous route were 82,5mg/dL; 81mg/dL; 80mg/dL; 78mg/dL; 86,5mg/dL; 83mg/dL; 84mg/dL; 99,5mg/dL whereas those evaluated by CGMS® corresponded to 77mg/dL; 77mg/dL; 69mg/dL; 80mg/dL; 81,5mg/dL; 76mg/dL; 52,5mg/dL; e 86mg/dL. There has been certain situations of non-recording of data by removal of the sensor and light inflammatory cutaneous reaction on the fixation site. Results obtained confirmed the efficacy of CGMS® on the assessment of interstitial glucose within the home settings and assisted, moreover also evidencing the need of training to the device owner regarding its related handling.



Palavras-chave

Glicemia. Glicosímetro. Venosa. Sensor. Calibração.

Keywords

Blood glucose. Glucometer. Venous. Sensor. Calibration.

A glicose é um carboidrato monossacarídeo, que representa a principal fonte de energia para os animais, além disso, é a única fonte de energia para as hemácias. A glicose é carregada para o interior das células pelas proteínas transportadoras de glicose (GLUT), em seguida, essa substância passa por inúmeras transformações até a geração da energia necessária para o metabolismo aeróbico (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2007). A transformação de glicose em energia exige a perfeita interação entre alguns mediadores químicos, principalmente os hormônios pancreáticos, insulina e glucagon (NELSON; SALISBURY, 1998).

A avaliação do estado glicêmico do paciente pode ser realizada por diferentes metodologias. Geralmente, a glicose corpórea dos animais é mensurada pela glicose sanguínea venosa, ou glicemia, por meio de glicosímetros portáteis ou testes laboratoriais de bancada (análise bioquímica). Considera-se que o cão é hiperglicêmico quando a sua concentração de glicose no sangue é maior que 130mg/dL e hipoglicêmico quando menor que 60mg/dL (SERÓDIO; CARVALHO; MACHADO, 2008).

Recebido em 15 de novembro de 2014 e aprovado em 07 de agosto de 2015. Premiado em primeiro lugar no Congresso Paulista das Especialidades 2014.

1. Discente de graduação de Medicina Veterinária da Universidade Anhembi Morumbi.
2. Professora orientadora Doutora da Clínica de Pequenos Animais da Universidade Anhembi Morumbi.
3. Educadora autônoma Medtronic Brasil em bomba de insulina e CGMS®

O controle da glicose venosa de forma seriada, também conhecido por curva glicêmica é definido atualmente como técnica de padrão ouro para o controle e tratamento de animais com variações importantes na glicemia, muito embora os valores de glicemia obtidos possam ser influenciados por fatores externos, em especial os causados pela manipulação do animal. Para se obter uma curva glicêmica, torna-se necessária a obtenção de sangue por meio de punção venosa repetida, ou por cateteres fixados, a cada duas a três horas, por um período mínimo de 12 horas. Esta forma invasiva de obtenção de dados geralmente resulta em alteração da rotina do paciente e também pode levar à hiperglicemia induzida por estresse. Do exposto depreende-se que, as curvas glicêmicas nem sempre podem corresponder às oscilações reais de glicemia no dia a dia. (WIEDMEYER; DECLUE, 2011). A mensuração da concentração de glicose a partir do fluido intersticial pode ser vantajosa, pois minimiza a necessidade de venopuntura e além disso a concentração de glicose no fluido intersticial é comparável com a medição da glicose no sangue total ou plasma em humanos e cães (WIEDMEYER; DECLUE, 2011).

Esse tipo de sistema de monitoração contínua de glicose permite o acompanhamento panorâmico das flutuações diárias, determinando as concentrações de glicose intersticial por meio de uma técnica pouco invasiva que consiste na inserção de um pequeno sensor flexível, no tecido subcutâneo do animal, que fica conectado a um aparelho de registro eletrônico das mensurações. O sistema de monitoramento desenvolvido no presente trabalho utiliza o método de análise por sensor enzimático, que corresponde a um fio de metal recoberto por uma camada enzimática que ao reagir com a glicose intersticial acarreta a oxidação da glicose presente no interstício cutâneo e resulta em uma corrente elétrica proporcional a concentração de glicose presente no meio, que permite que o leitor de glicose intersticial registre os valores seriados de glicose (MURAKAMI, 2007).

Em metodologia já validada para cães, gatos e cavalos, há mais de uma década, as medidas da glicose intersticial são realizadas a cada cinco minutos resultando em 288 medidas em 24 horas. Os registros são posteriormente avaliados em um programa de computador que gerará um gráfico de distribuição dos valores em um espaço de tempo. Este sistema evita situações de estresse que podem prejudicar a avaliação adequada do perfil glicêmico, como internação em ambiente hospitalar, sedação e flebotomias seriadas (WIEDMEYER *et al.*, 2005).

Na medicina humana, a maioria dos autores concorda que a mensuração constante de glicose intersticial é um procedimento pouco invasivo e de grande valia na

investigação e manejo de doenças, representando um instrumento importante para o diagnóstico e tratamento de pacientes (ABDALLA, 2007).

Em cães, os principais benefícios da avaliação contínua de glicose intersticial, são a possibilidade da identificação de momentos episódicos de oscilações glicêmicas e a possibilidade de serem obtidos valores de glicose colhidos no período noturno (SURMAN; FLEEMAN, 2013).

No Brasil, ainda não foram realizadas pesquisas empregando o CGMS[®] para a avaliação da glicemia em animais sadios ou doentes. Assim, o presente trabalho padronizou o método para a realidade nacional, a partir de sua utilização em cães hígdos, mantidos em ambiente controlado (canil) e em ambiente doméstico, de forma a simular condições ideais e de rotina domiciliar, objetivando futuras aplicações para a monitoração clínica das variações da glicose corpórea em cães.

Material e métodos

Foram utilizados oito animais clinicamente hígdos, quatro fêmeas e quatro machos, com idade média de quatro anos, dos quais cinco sem raça definida e três com definição racial, dois não eram gonadectomizados. Os animais foram selecionados após a realização de um exame clínico completo (incluindo exames laboratoriais de rotina), e escolhidos de forma a representar dois tipos de ambiente: os mantidos em ambiente controlado (cães do canil do Hospital Veterinário Escola) e os mantidos em ambiente doméstico, com a aprovação consensual dos tutores e cuidadores.

Os fatores de exclusão foram a presença de doenças sistêmicas ou a ocorrência de terapia medicamentosa crônica ou recente.

A partir da seleção, os cães foram submetidos ao uso do sistema CGMS[®], (*Continuous Glucose Monitoring System*, Sistema Guardian Real-Time[®]/Medtronic /E.U.A.), equipamento que dispõe de um sensor amperométrico flexível que foi inserido na região subcutânea medial às escápulas. O princípio do método é mensurar a glicose com base na reação eletroquímica da enzima glicose-oxidase com a glicose do fluido intersticial. Os valores, entre 40 e 400 mg/dl, eram captados a cada 10 segundos, com o registro da média desses valores a cada cinco minutos, num total de 288 mensurações em 24 horas e 864 medidas durante 72 horas. Esses resultados foram transmitidos, por um sistema de transmissão sem fio (Minilink Wireless[®]) a um monitor que era responsável pelo armazenamento das leituras contínuas de glicose, bem como, pela transmissão dos dados obtidos ao sistema computacional.

Para calibração e funcionamento do aparelho, é necessário o registro, ou inserção, no mesmo, de um valor de glicemia obtida por venopunção, a cada 12 horas. Sendo que no primeiro dia, essa regulação era iniciada duas horas após a inicialização do aparelho e, novamente, seis horas após a primeira calibração. O aparelho utilizado para a medição da glicemia foi o glicosímetro Bayer[®] - Modelo Breeze[™]2.

Os resultados obtidos foram expressos em mediana, mínimo e máximo. Para análise estatística, foi utilizado o teste T de Student para comparação entre os valores de glicose venosa e intersticial, respectivamente, obtidos pelo glicosímetro e GCMS[®]. Também foi utilizado o método de Wilcoxon para a comparação entre os valores pelo GCMS[®] obtidos em um mesmo animal, e Mann-Whitney para a comparação entre os valores do GCMS[®] de diferentes animais. Foram considerados significantes os resultados cujos valores de p fossem menores que 0,05 (p<0,05).

Foram desenvolvidos vestimentas e aparatos específicos para uma melhor fixação e uso do aparelho GCMS[®], bem como para oferecer conforto aos animais testados (Figura 1).



Figura 1 - Monitor CGMS[®] e vestimenta específica desenvolvida, objetivando conforto ao animal e proteção do sensor instalado em região interescapular
Fonte: Casagrande, K. (2014).

Este projeto científico foi submetido, aprovado e supervisionado pelo Comitê de Ética da Universidade Anhembí Morumbi, os animais foram acompanhados diuturnamente pelos responsáveis do projeto, funcionários, e pelos respectivos tutores quando em acompanhamento domiciliar.

Resultados/Discussão

Referente às 72 horas de monitoração, os menores valores individuais de glicose intersticial registrados nos oito animais foram de 48mg/dL, 40mg/dL, 40mg/dL, 40mg/dL, 48mg/dL, 40mg/dL, 40mg/dL e 40 mg/dL,

respectivamente, sendo que a mediana foi de 40mg/dL. Os maiores resultados registrados foram 102mg/dL, 108mg/dL, 94mg/dL, 108mg/dL, 112mg/dL, 102mg/dL, 114mg/dL e 130mg/dL, respectivamente, e a mediana de 108mg/dL (Figura 2 e 3). Os limites mínimo e máximo de registro do equipamento GCMS[®] encontram-se na faixa de valores entre 40 e 400 mg/dL (Figuras 2 e 3).

De forma geral, a venopunção pode causar estresse levando a uma elevação transitória da glicemia (WIEDMEYER *et al.*, 2005). Esse fenômeno foi detectado no presente trabalho, sendo que nas 72 horas de acompanhamento, 100% dos animais apresentaram maiores elevações nos valores da glicose intersticial no ato da coleta do sangue venoso, para a calibração do aparelho GCMS[®] (mediana de 74± mg/dL). Os menores valores da glicose intersticial (mediana de 40 mg/dL) foram observados no período noturno situado entre 00h00min e 07h00min (Figuras 4 e 5).

Embora as concentrações de glicose venosa usualmente sejam maiores que as de glicose intersticial, foi observada a existência de uma boa concordância entre os valores captados no sangue com os obtidos no interstício subcutâneo (WIEDMEYER *et al.*, 2005). Foi realizada a comparação dos valores glicêmicos com o da glicose intersticial, obtidas no mesmo momento, ou seja, o momento da calibração do GCMS[®] e não foram observadas diferenças entre as amostras determinadas pelos dois métodos (p<0,05), confirmando a existência de uma boa correlação entre a glicose do interstício subcutâneo e a glicose venosa. Ainda, a título de ilustração, as medianas de todos os valores de glicose obtidos via venosa foram 82,5 mg/dL;81mg/dL;80mg/dL;78mg/dL;86,5mg/dL;83mg/dL;84mg/dL; 99,5mg/dl, para cada animal, já as que foram avaliadas pelo CGMS[®], corresponderam respectivamente a 77mg/dL;77mg/dL;69mg/dL;80mg/dL;81,5mg/dL;76mg/dL;52,5mg/dL;e86mg/dL (Figura 5). Embora esses valores tenham sido registrados no mesmo horário, todas as medianas aferidas por via venosa tiveram resultados superiores às mensurações realizadas pela via subcutânea, embora esta superioridade não tenha sido significativa em sua quase totalidade, quando comparadas as suas médias. (Figura 5).

Ainda em análise, os animais estudados apresentaram diferenças entre si (p<0,05, teste de Mann-Whitney) no que tange à mediana dos valores gerais de glicose intersticial.

Considerando-se que a colocação do CGMS[®], calibração e acompanhamento da condição de fixação dos sensores nos animais normais, apresentados no presente trabalho, foram realizadas em domicílio (n=4) e em ambiente controlado (canil do Hospital Veterinário; n=4) e, portanto, acompanhados diuturnamente pelos

VALORES REGISTRADOS PELO GCMS®	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6	Cão 7	Cão 8
Menor valor registrado	48mg/dL	40mg/dL	40mg/dL	40mg/dL	48mg/dL	40mg/dL	40mg/dL	40mg/dL
Mediana	78mg/dL	72mg/dL	60mg/dL	72mg/dL	82mg/dL	72mg/dL	50mg/dL	74mg/dL
Maior valor registrado	102mg/dL	108mg/dL	94mg/dL	108mg/dL	112mg/dL	102mg/dL	114mg/dL	130mg/dL

Figura 2 - Exposição dos valores de glicose intersticial registrados durante três dias pelo GCMS® Fonte: Casagrande, K. (2014)



Figura 3 - Curva contínua da concentração de glicose intersticial, durante período de três dias (72h), obtida pela utilização do CGMS®, em cão saudável. Fonte: Casagrande, K. (2014).

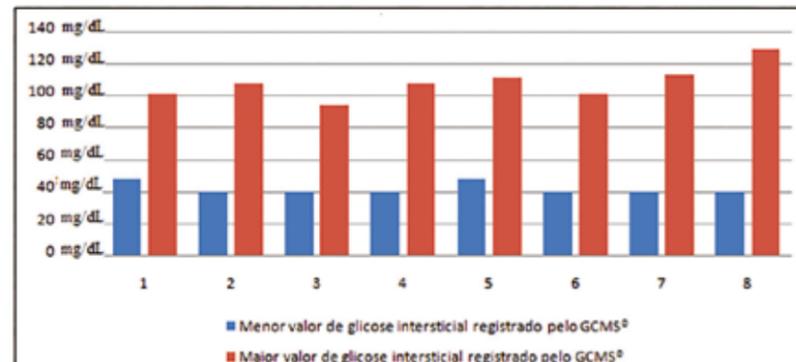


Figura 4 - Representação dos menores e maiores valores de glicose intersticial obtidos em cães saudáveis (n=8) pelo sistema (GCMS®). Fonte: Casagrande, K. (2014)

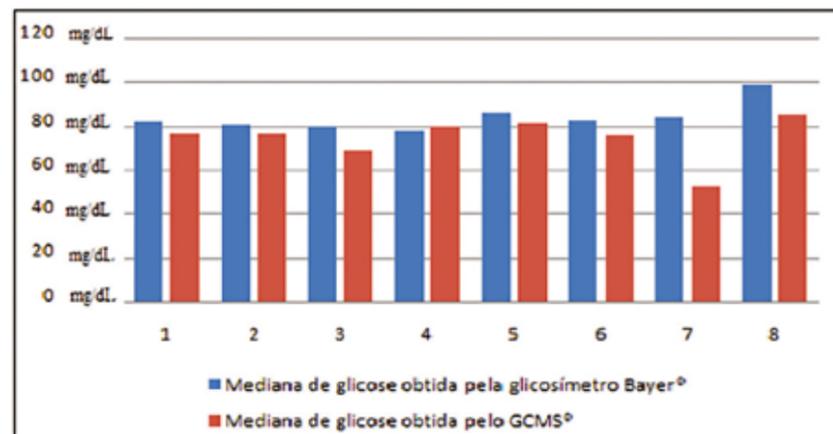


Figura 5 - Comparação entre os valores médios da glicose venosa e da glicose intersticial, de cada animal, obtidas simultaneamente, no momento da calibração do CGMS®. Fonte: Casagrande, K. (2014).

responsáveis pelo projeto e pelos funcionários, e os que ficaram em ambiente doméstico, por seus tutores, foram constatados alguns percalços na obtenção de resultados e uso do aparelho, observando-se como danos maiores o fato de que dois animais desenvolveram dermatose inflamatória no local da fixação do sensor, após a retirada do mesmo, e que dois animais domiciliados tiveram os seus sensores removidos do local de inserção.

A utilização do CGMS® foi eficaz para a avaliação da glicose intersticial de animais em âmbito doméstico, como também nos mantidos em ambiente controlado, porém, ressalta-se que na avaliação domiciliar podem ocorrer alguns problemas, pois os cães estarão sob os cuidados de proprietários leigos e não familiarizados com a tecnologia do CGMS®. Este aspecto é importante pois haverá necessidade de manuseio e, principalmente, da calibração do aparelho, por meio de glicemias obtidas nas primeiras duas e seis horas após a inicialização do sensor, e a cada 12 horas até o término da monitoria da glicose intersticial. Por este manuseio faz-se necessária a aplicação de um treinamento prático e teórico que qualifique o responsável pelo manuseio do aparelho e do animal durante o uso da avaliação de glicose intersticial de forma contínua. Observou-se também que a fixação do sensor do CGMS® na pele do animal foi mais eficaz e duradoura quando realizada em ambiente assistido (como no canil) do que em ambiente domiciliar. Isto se deve provavelmente ao fato de que o cão em seu meio doméstico usufrui de maior mobilidade e liberdade de ações.

Conclusão

A mensuração da glicose intersticial, de forma constante é um instrumento valioso que possibilitou a análise contínua do comportamento glicêmico em cães durante as 72 horas de monitoração, assim foi caracterizado um método pouco invasivo, com boa tolerância ao uso e que foi capaz de identificar quadros de hipoglicemia classificados clinicamente como assintomáticos. Destaque-se que para o emprego do procedimento em ambiente doméstico torna-se necessário o treinamento prático e teórico do proprietário do animal, pois a fixação do sensor na pele do animal mantido em ambiente doméstico foi menos eficaz quando comparada à fixação em ambiente controlado, devido a uma maior liberdade de ambulação dos animais. ☺

Referências

- ABDALLA, L. F. *Avaliação do controle metabólico de pacientes diabéticos através do monitoramento contínuo da glicose por 72 horas: estudo comparativo com métodos bioquímicos convencionais*. 2007. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde. Brasília, 2007.
- BERG, M. J.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. *Bioquímica*. 6. ed. São Paulo: Guanabara, 2007.
- MOONEY, C. T.; PETERSON, M. E. *Manual de endocrinologia canina e felina*. 3. ed. São Paulo: Roca, 2009.
- MURAKAMI, A. *vMonGluco - sistema de monitoramento contínuo de glicose*. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.
- NELSON, R. W.; SALISBURY, S. K. Neoplasias de células betas pancreáticas. In: BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. *Manual saunders: clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 1998. p. 1591-1697.
- SERÓDIO, A. T.; CARVALHO, C. B.; MACHADO, J. A. Glicemia em cães (Canis familiaris) com glucômetro digital portátil e teste laboratorial convencional. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*, v. 1, n. 1, p. 25-34, 2008.
- SURMAN, S.; FLEEMAN, L. Continuous glucose monitoring in small animals. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, v. 43, n. 2, p. 381-406, 2013.
- WIEDMEYER, C. E.; DECLUE, A. E. Glucose monitoring in diabetic dogs and cats: adapting new technology for home and hospital care. *Clinics in Laboratory Medicine*, v. 31, n. 1, p. 41-50, 2011.
- WIEDMEYER, C. E., JOHNSON, P. J., COHN, L. A., MEADOWS, R. L., KERL, M. E., TESSMAN, R. K., DECLUE, A. E. Evaluation of a continuous glucose monitoring system for use in veterinary medicine. *Diabetes Technology & Therapeutics*, v. 7, n. 6, p. 885-895, 2005.