

## Manuscrito Aceite

**Título:** Determinação da Glicemia, ou Como a Química Ajuda a Melhorar a Qualidade de Vida das Pessoas com Diabetes

**Autores:** João Valente Nabais

Este manuscrito foi aceite após revisão por pares e aparece como um Manuscrito Aceite *online* antes de edição, provas e publicação formal da versão final (VF) no “QUÍMICA”. A VF será disponibilizada brevemente e pode ser ligeiramente diferente do Manuscrito Aceite como resultado de edição.

Os autores são responsáveis pelo conteúdo deste Manuscrito Aceite.

**Disponível *online*:** 28/09/2020



# Determinação da Glicemia, ou Como a Química Ajuda a Melhorar a Qualidade de Vida das Pessoas com Diabetes

João Valente Nabais <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Comprehensive Health Research Center (CHRC)

<sup>2</sup>Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Química

[jvn@uevora.pt](mailto:jvn@uevora.pt)

## Abstract

**Determination of blood glucose, aka how Chemistry helps to improve the quality of life of people with diabetes.** *In this paper, the main methods for the determination of blood glucose are briefly described; future, current and historical; giving special emphasis to its importance for the quality of life of people with diabetes.*

## Resumo

*Neste artigo são sucintamente descritos os principais métodos para a determinação da glicémia; futuros, atuais e históricos; dando especial destaque à sua importância para a qualidade de vida das pessoas com diabetes.*

## O que é a diabetes

Do processo de digestão de alimentos com hidratos de carbono é formada a glucose que, após ser absorvida no intestino, entra em circulação sanguínea ficando disponível para as células a utilizarem para a produção de energia. O transporte da glucose para o interior das células é efetuado por um processo bioquímico onde a insulina, hormona produzida nas células beta dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, tem um papel crucial. A diabetes é uma doença metabólica crónica que se traduz por uma elevação da concentração de glucose no sangue, designada de hiperglicemia, motivada pela incapacidade do organismo de utilizar convenientemente a glucose, pela ausência ou uso ineficaz da insulina. A glucose fica em excesso na circulação sanguínea sendo depois expelida pela urina, num processo designado de glicosúria [1].

Como curiosidade referir que Paul Langerhans (1847-1888), autor da descoberta das células produtoras de insulina, viveu na ilha da Madeira desde 1874, para onde se mudou para curar uma tuberculose pulmonar pelo clima ameno da ilha e onde acabou por falecer a 20 de julho de 1888.

Numa pessoa sem diabetes, quando existe o aumento da glicemia (concentração de glucose no sangue), o pâncreas vai produzir a quantidade de insulina necessária para levar a glucose ao interior das células e ao seu armazenamento no fígado na forma de glicogénio. Numa pessoa com diabetes tipo 1 a produção de insulina não existe pelo fato de as células beta terem sido destruídas pelo sistema imunológico, sendo por isso designada de doença autoimune, enquanto que no caso da diabetes tipo 2 pode existir uma produção insuficiente de insulina e/ou haver uma ineficaz utilização da insulina pelo organismo, normalmente por haver insulinoresistência. Para além destes dois tipos de diabetes, que correspondem a cerca de 90% das pessoas com diabetes, há outros tipos de diabetes, como por exemplo diabetes gestacional, diabetes autoimune latente do adulto (LADA, do inglês *Latent Autoimmune Diabetes in Adults*) e diabetes monogénica (MODY, do inglês *Maturity Onset Diabetes of the Young*). Os sintomas mais frequentes da diabetes são perda de peso, falta de energia, sede em excesso, urinar frequentemente, infeções recorrentes, aumento de apetite, cansaço e sono excessivo e visão embaçada ou turva. No caso da diabetes tipo 2 as pessoas podem estar assintomáticas durante anos. O tratamento da diabetes tipo 1 é efetuado pela administração de insulina, por injeção ou perfusão contínua, enquanto que na diabetes tipo 2 são usados antidiabéticos orais, podendo também ser usada insulina. Para além destes fármacos é fundamental a educação terapêutica das pessoas, o exercício físico e a alimentação equilibrada.

Os critérios de diagnóstico da diabetes são definidos pela Norma 002/2011 da Direção Geral da Saúde (DGS) com base nos valores de glicemia obtidos em determinadas condições. Os interessados podem consultar e descarregar a norma a partir do sítio de internet da DGS [2]. No que diz respeito à prevalência da diabetes, a Federação Internacional da Diabetes estima que em 2019 viviam com diabetes 463 milhões de pessoas em todo o Mundo e 59 milhões na Europa [3]. Em Portugal, o Observatório Nacional da Diabetes estima que em 2015 a prevalência na população portuguesa com idades no intervalo 20-79 anos tenha sido de 13,3% [4].

## **Importância da determinação da glicemia**

Um dos objetivos terapêuticos das pessoas com diabetes é terem valores de glicemia dentro da gama de valores considerados ótimos o maior tempo possível, o designado tempo no alvo. Está demonstrado, por diversos estudos, que atingir este objetivo previne, ou retarda, o surgimento das complicações da diabetes, tais como falência renal, doenças cardiovasculares, amputações e cegueira [5]. Para além destas complicações, resultantes da má compensação metabólica da diabetes durante um período mais ou menos longo, podem também surgir as complicações agudas da diabetes, só possíveis de detetar pela determinação da glicemia, designadamente hiperglicemia e hipoglicemia. O caso da hipoglicemia é de particular importância, pois, se não for tratada a tempo, pode levar, entre outras consequências, à disfunção cognitiva e mesmo ao coma e à morte. Valores de glicemia abaixo de 70mg/dL requerem a ingestão de açúcar ou bebida açucarada. Para saber mais, pode consultar a página de internet da Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal (APDP, [apdp.pt](http://apdp.pt)). De realçar ainda que as pessoas tratadas com insulina ajustam a dose consoante diversos fatores, tais como a glicemia, a alimentação, o alvo terapêutico e a sensibilidade à insulina, definida como a sensibilidade do corpo aos efeitos da insulina. Esta sensibilidade é traduzida no fator de sensibilidade que quantifica qual a diminuição da glicemia por cada unidade de insulina administrada.

Por estes motivos, podemos dizer que a medição da glicemia é uma ferramenta indispensável e fundamental para a gestão da diabetes e para a qualidade de vida das pessoas com diabetes.

A determinação da glicemia é feita normalmente pelas pessoas com diabetes, ou cuidadores, com o recurso a diversas técnicas e dispositivos abordados neste artigo.

## **Um pouco de História**

Antes de ser possível determinar a glicemia, o diagnóstico e gestão da diabetes eram efetuados pela glicosúria, glucose excretada pela urina, por exemplo através de diversos testes químicos qualitativos que usavam as propriedades redutoras da glucose e a reação com sulfato de cobre(II) para produzir óxido de cobre(I), cuja cor característica indicava a presença de glucose [6]. A primeira tira teste para a análise qualitativa de glicosúria foi desenvolvida em 1850, tendo sido desde então desenvolvidas diversas tiras teste e fitas semi-quantitativas, tal como a ilustrada na Fig. 1.



Figura 1 – Glico-fita (museu da Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal).

A glicemia é determinada pelo uso de uma gota de sangue, obtida por punção capilar de um dos dedos da mão, a qual é colocada numa tira teste. O sangue vai reagir com os reagentes fixados na tira teste sendo o resultado da reação depois analisado. As primeiras tiras teste foram desenvolvidas em 1965, separadamente pelas empresas Ames e Boehringer Mannheim, as quais usavam a enzima glucose oxidase encapsulada numa membrana semipermeável como catalisador para bloquear a passagem dos glóbulos vermelhos. A tonalidade da cor do produto da reação era proporcional à concentração de glucose. A gota de sangue aplicada na tira era removida com algodão após 1 minuto e a cor comparada com uma escala colocada no frasco após 1 minuto de espera para se obter um resultado semi-quantitativo. Um exemplo destas tiras é mostrado na Fig. 2.



Figura 2 – BM teste (museu da Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal).

O passo seguinte foi o desenvolvimento, em 1975, de medidores de glicemia que já permitiam uma determinação quantitativa e que constituíram um incremento significativo na gestão da diabetes. Os primeiros modelos pesavam cerca de 1,2 kg e eram baseados na análise espectral das tiras referidas anteriormente através da determinação da intensidade da radiação refletida, sendo necessário o uso de uma tira de calibração antes das medições. Os primeiros medidores tinham diversas fragilidades, tais como necessidade de uma gota de sangue grande, dependerem de calibrações e fornecerem resultados com uma margem de erro, por vezes, significativa.

A partir de 1980 ocorreu um rápido desenvolvimento dos medidores, tornando-os mais fáceis de usar, mais portáteis, mais apelativos e com memória interna. As tiras teste também tiveram modificações relevantes para diminuir a quantidade de sangue necessária, deixar de ser necessário limpar a gota de sangue e o uso de outras metodologias. Em 1988 foram introduzidos no mercado medidores e tiras teste com o uso de processos eletroquímicos que já estavam pré-calibrados, eram simples de manusear, mais fiáveis e mais precisos. Desde então, o mercado evoluiu para o uso generalizado dos processos eletroquímicos com o recurso a tiras teste com enchimento por capilaridade.

### **Métodos usados atualmente na determinação da glicémia**

Os métodos atuais, exemplos ilustrados na Fig. 3, fornecem resultados em cerca de 5 a 15 segundos, usam uma gota de sangue de aproximadamente 0,3  $\mu\text{L}$  e envolvem os seguintes passos:

- 1) Inserir a tira teste no medidor que se liga automaticamente;
- 2) Obter uma gota de sangue por punção capilar;
- 3) Aproximar a gota de sangue da tira teste para o mesmo ser inserido na tira por capilaridade;
- 4) O resultado da glicemia é mostrado no visor do medidor ou em outro recetor tal como uma aplicação no telemóvel.



Figura 3 – Exemplos de medidores de glicemia atuais.

São usados métodos eletroquímicos para a quantificação da glicemia com a utilização de enzimas específicas para a glucose, como por exemplo a glucose oxidase ou glucose desidrogenase (GDH), a qual é oxidada a gluconolactona, sendo os elétrons transferidos para um mediador. Este mediador é, regra geral, uma molécula pequena que consegue rapidamente aceitar e doar elétrons permutando assim entre as suas formas oxidada e reduzida. São usados, por exemplo, derivados de ferroceno, no caso de haver 1 elétron a ser permutado, ou quinonas que permutam 2 elétrons.

O mediador permuta de seguida os elétrons com um eléctrodo presente na tira teste produzindo uma corrente elétrica proporcional à concentração de glucose. Os mediadores devem ter um potencial redox baixo para permitir que o eléctrodo de medida opere a baixos potenciais reduzindo as interferências e aumentando a precisão.

As reações ocorrem na superfície das camadas da tira teste onde os processos de difusão desempenham um papel determinante para que o transporte das espécies seja efetuado de forma eficaz e rápida.

Nos dispositivos que usam processos colorimétricos, este fluxo de elétrons é captado por uma molécula indicadora que vai desenvolver uma cor proporcional à concentração de glucose. A Fig. 4 apresenta um esquema genérico destes processos.

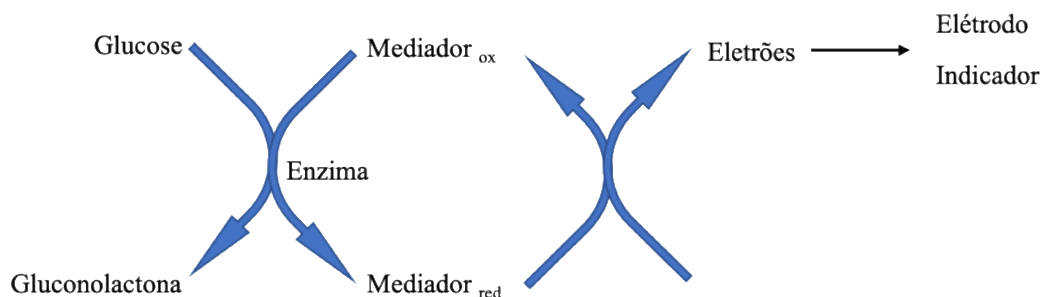


Figura 4 – Esquema genérico dos processos eletroquímicos usados nas tiras teste. Adaptado de [7].

Neste processo podem também ser usadas coenzimas, tais como dinucleotídeo de flavina adenina (FAD), pirrolo quinolina quinona (PQQ) ou nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), que participam nos passos intermédios do processo, tal como no exemplo mostrado na Fig. 5.

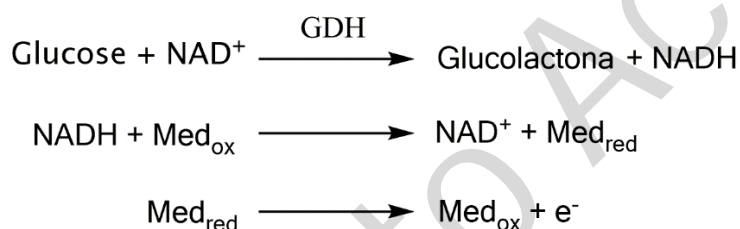


Figura 5 – Reações tipo para determinação glicémica.

As tiras teste contêm os reagentes e eléttrodos na forma de camadas onde a química seca é fundamental. Há vários processos industriais para produzir tiras teste, tais como a impressão de tela (*screen printing*), revestimento de lâmina (*blade coating*) ou a ablação a laser, sendo o mais simples a impregnação de uma membrana com uma solução tampão contendo os reagentes. O desenho das tiras teste depende do fabricante, em particular no que diz respeito ao número de eléttrodos e à forma de colocação dos mesmos na tira. O método mais genérico usa dois eléttrodos, o eléttrodo de trabalho de carbono, ouro ou platina (o qual tem um revestimento com uma mistura da enzima e do mediador) e o eléttrodo de referência de Ag/AgCl. As tiras teste podem ser vistas como uma célula eletroquímica em miniatura, tal como ilustrado na Fig. 6, sendo compostas por suportes de plástico onde os eléttrodos e reagentes são ancorados ou incluídos em revestimentos. Possuem também um espaçador que separa os suportes de plástico e por onde o sangue vai entrar na tira teste. Para além dos reagentes já referidos, são também usados conservantes, para aumentar o prazo de validade, e surfactantes, para ajudar o sangue a penetrar na tira teste.



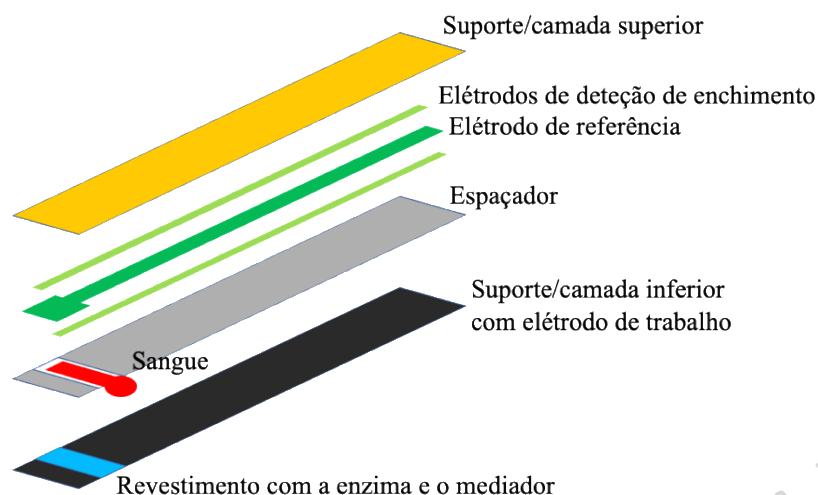


Figura 6 – Esquema típico de uma tira teste.

Quando o sangue entra na tira, a reação tem início e há uma subida da corrente elétrica, a qual atinge um pico e começa a decair à medida que a reação prossegue, produzindo assim uma curva de corrente em função do tempo. O método de análise do sinal obtido depende do desenho da tira teste, podendo ser amperométrico ou coulométrico, onde a corrente instantânea a um tempo específico ou a carga integrada na área da curva, respetivamente, é proporcional à concentração de glucose. Os métodos amperométricos são os mais usados e os mais sensíveis. Alguns sistemas funcionam sem o uso de mediadores, sendo a transferência de eletrões efetuada pelos eléctrodos através de complexos capazes de transferir carga, tais como eléctrodos de sais orgânicos condutores. Nestas tiras teste, o sal condutor é feito crescer num filme eletrocondutor, tal como nanofitas de grafeno, sendo a enzima oxidada diretamente na superfície do cristal [8].

Recentemente, foi publicado uma revisão da literatura sobre os métodos em desenvolvimento com potencial para serem usados na determinação da glicemia, que abrangeu os anos 2016 a 2020. Estes métodos envolvem o uso de nanomateriais, polímeros condutores, nanotubos de carbono, grafeno, estruturas metal-orgânicas (MOFs) e polímeros de impressão molecular (MIPs), mas não estão ainda incorporados em produtos comerciais. Inclusivamente, alguns provavelmente nunca o serão pelo seu custo acrescido e por ainda haver necessidade de resolver diversos problemas [9].

Atualmente, os medidores de glicemia têm que obedecer à norma ISO 15197, publicada em 2003 e revista em 2013, que estabelece os critérios de desempenho aceitáveis para estes dispositivos médicos [10]. Esta norma usa como critério de precisão aceitável se pelo menos 95% dos resultados estiverem no intervalo  $\pm 15\text{mg/dL}$  para valores de glicemia inferiores a 100 mg/dL,

tendo como padrão a determinação laboratorial, ou dentro do limite  $\pm 15\%$  do valor padrão para valores de glicemia maiores ou iguais a 100 mg/dL.

Os métodos anteriores fornecem o valor pontual da glicemia associado ao instante em que o teste é realizado. A glicemia pode também ser determinada de uma forma contínua no líquido intersticial por diversos sistemas existentes no mercado. Estes medidores contínuos de glicemia, ilustrados na Fig. 7, funcionam pela colocação de um sensor no tecido subcutâneo, normalmente no braço ou abdômen, os quais possuem uma membrana que permite a passagem da glucose até ao compartimento onde está armazenada a enzima glicose oxidase. Após a reação ocorrer é originado um sinal elétrico diretamente proporcional à concentração de glucose. Esse sinal é enviado pelo transmissor, que está conectado ao sensor, para o recetor que o transforma no valor da glicemia mostrando-o no visor. Este processo é feito de forma contínua sendo a glicemia determinada a cada 5 minutos. O recetor, fornecido pela empresa ou uma aplicação no telemóvel mostra a glicemia do momento e também um gráfico com a evolução ao longo do tempo. A comunicação do valor da glicemia pode também ser feita para uma bomba infusora de insulina. Consoante a marca, estes sensores precisam, ou não, de calibrações diárias com valores de glicemia capilar e podem ser usados entre 7 a 14 dias, sendo o transmissor recarregável e reutilizável. O valor da glicemia no líquido intersticial tem um hiato temporal com a glicemia capilar de 5 a 15 minutos, motivado pela difusão da glucose do sangue para o líquido intersticial. Esta diferença é de particular relevância quando existe uma variação brusca de glicemia [11].



Figura 7 – Medidores contínuos de glicémia

Os sistemas contínuos têm algumas vantagens importantes pois mostram a evolução da glicemia ao longo do tempo, permitindo um melhor controlo da diabetes e um melhor ajuste da terapêutica. Estes sistemas têm um conjunto de alarmes que são acionados quando a glicemia

tem variações bruscas e quando está acima ou abaixo de determinado valor inserido pelo utilizador. Esta é uma vantagem fundamental para, por exemplo, as pessoas com diabetes sem sensibilidade para as hipoglicemias e que sem esta ajuda podem entrar em coma pelo não tratamento adequado da hipoglicemia. Um exemplo da curva obtida em comparação com os valores de glicemia discretos é mostrado na Fig. 8. Para saber mais sobre os sistemas disponíveis em Portugal consultar: [dexcom.com/home](http://dexcom.com/home), [medtronic-diabetes.com.pt](http://medtronic-diabetes.com.pt) ou [menarinidiagnostics.com/en-us/Home/Diabetes-care-products/Glucomen-day-CGM/Features](http://menarinidiagnostics.com/en-us/Home/Diabetes-care-products/Glucomen-day-CGM/Features).

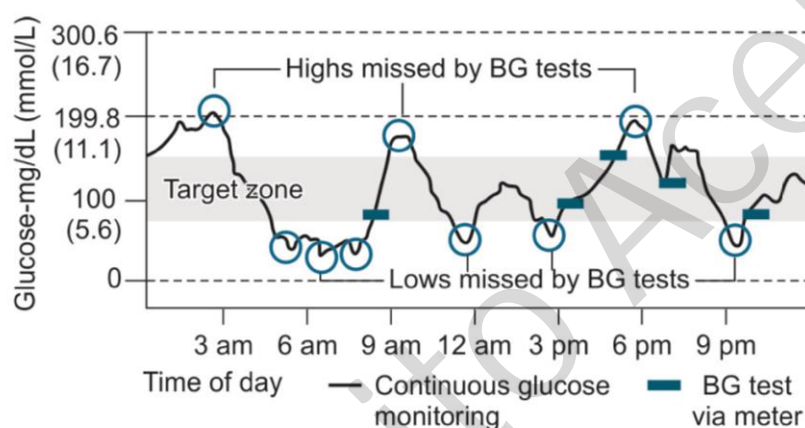


Figura 8 – Curva de glicemia em comparação com medidas pontuais [12].

Surgiu no mercado nos últimos anos um medidor com um sistema *flash* para medição da glicémia. Este sistema é composto por um sensor introduzido no tecido subcutâneo, o qual tem um transmissor acoplado. Os dados são transmitidos por NFC (protocolo de comunicação entre aparelhos por aproximação, *Near Field Communication*) para um leitor, ou um telemóvel com a aplicação, quando estes são aproximados do transmissor. O sistema mede a glicémia a cada minuto e guarda os dados das últimas 8 horas. Quando ocorre a transmissão dos dados, o leitor mostra a glicémia no momento, a curva das glicémias das últimas 8 horas e uma seta de tendência que dá uma indicação da evolução recente da glicemia. Este sistema mede a glicemia no tecido intersticial e usa a glucose oxidase e mediadores de ósmio inseridos numa matriz polimérica constituindo uma rede complexa de terminais sensíveis à glucose, não precisando de calibrações diárias (Fig. 9). Cada sensor tem uma duração de 14 dias. Para saber mais consultar: [provider.myfreestyle.com/sensor-technology.html](http://provider.myfreestyle.com/sensor-technology.html).

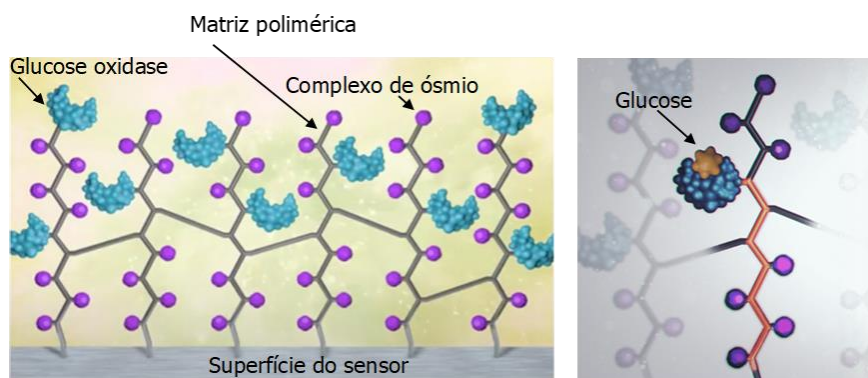


Figura 9 – Sistema em rede usado pelo Freestyle Libre®.

Foi desenvolvido um sistema de medição contínua implantado no braço e com a duração de uso até 6 meses na versão mais recente. Este medidor mede a glucose no líquido intersticial através da reação com o oxigénio molecular, catalisada pela glucose oxidase imobilizada em grafite, para formar glucolactona e peróxido de hidrogénio. O aumento da concentração de peróxido de hidrogénio e a diminuição da concentração de oxigénio é proporcional à concentração de glucose [8]. Para saber mais consultar [eversensediababetes.com/sensor](https://eversensediababetes.com/sensor).

Em desenvolvimento estão duas tecnologias, já publicitadas nos meios de comunicação e alguns artigos, designadamente lentes de contacto com sensores e tatuagens [13]. No primeiro caso, a ser desenvolvido pela Google e pela Novartis, a lente tem incorporado um sensor que usa as lágrimas como meio de análise e um transmissor (Fig. 10) [14]. No caso das tatuagens, estão a ser desenvolvidos pigmentos sensíveis à concentração de glucose a serem incorporados nas tintas usadas nas tatuagens. Estes pigmentos mudam de cor consoante a glicemia e podem ser usados como uma medida semi-quantitativa deste valor. Estão também em estudo, ainda laboratorial na esmagadora maioria dos casos, métodos não invasivos que tentam explorar a resposta da glucose a diferentes tipos de radiação, tais como ultrassons, radiofrequências e infravermelho e técnicas espectroscópicas aliadas a inteligência artificial [15].

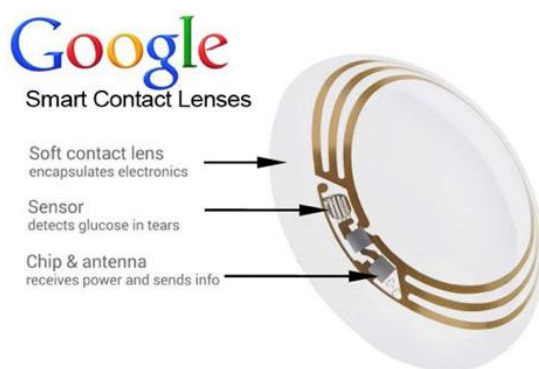


Figura 10 – Lente de contacto com sensor para determinação da glicémia.

## Agradecimentos

Agradeço à Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal a visita ao museu e a disponibilidade para a obtenção das fotos e sua utilização neste artigo.

## Referências

- [1] “Viver com a diabetes, 3ª Edição”, Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal, Lidel-Edições Técnicas lda, Lisboa, 2012.
- [2] Norma da Direcção geral da Saúde  
[www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011-pdf.aspx](http://www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011-pdf.aspx) (acedido em 18-06-2020)
- [3] “IDF Diabetes Atlas, 9<sup>th</sup> Ed.” International Diabetes Federation, Bruxelas, 2019.
- [4] “Diabetes factos e números – ano 2015”, Observatório Nacional da Diabetes, Lisboa, 2016. Acessível em [www.spd.pt/index.php/observatorio-mainmenu-330](http://www.spd.pt/index.php/observatorio-mainmenu-330).
- [5] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, *N Engl J Med* **1993**, 329, 977–986.
- [6] S.F. Clarke, J.R. Foster, *British Journal of Biomedical Science* **2012**, 69, 83–93.
- [7] J. Hones, P. Muller, N. Surridge, *Diabetes Technology & Therapeutics* **2008**, 10, S10–S26.
- [8] C. Sabu, T.K. Henna, V.R. Raphey, K.P. Nivitha, K. Pramod, *Biosensors and Bioelectronics*, **2019**, 141, 111201.
- [9] E. Sehit, Z. Altintas, *Biosensors and Bioelectronics*, **2020**, 159, 112165.
- [10] International Organization for Standardization. ISO 15197: 2013(E): *In vitro diagnostic test systems—requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in man- aging diabetes mellitus*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, **2013**.
- [11] P. Apablaza, N. Soto, R. Román, E. Codner, *Rev. Med. Clin. Condes* **2016**, 27, 213–226.
- [12] J.J. Kannampilly, *Continous Glucose Monitoring System*, 198–200 in A. Muruganathan (ed.) “Medicine Update”, Jaypee Brothers Medical Publishers, **2013**.
- [13] D. Meetoo, L. Wong, B. Ochieng, *British Journal of Nursing* **2019**, 28, 110–115.
- [14] M. Senior, *Nat. Biotechnol.*, **2014**, 32, 856.
- [15] W.V. Gonzales, A.T. Mobashsher, A. Abbosh, *Sensors* **2019**, 19, 800.