



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**COMPARACIÓN DE UN GLUCÓMETRO PORTÁTIL CON EL MÉTODO
ESTÁNDAR EN LA DETERMINACIÓN DE GLICEMIA EN CANINOS DE
DISTINTA CONDICIÓN CORPORAL**

NATALIA LOURDES DE LA FUENTE ROMERO

Memoria para optar al
Título Profesional de
Médico Veterinario
Departamento de Patología animal

PROFESOR GUÍA: GUSTAVO ADOLFO FARÍAS ROLDÁN

Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE

2017



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**COMPARACIÓN DE UN GLUCÓMETRO PORTÁTIL CON EL MÉTODO
ESTÁNDAR EN LA DETERMINACIÓN DE GLICEMIA EN CANINOS DE
DISTINTA CONDICIÓN CORPORAL**

NATALIA LOURDES DE LA FUENTE ROMERO

Memoria para optar al
Título Profesional de
Médico Veterinario
Departamento de Patología animal

NOTA FINAL:.....

FIRMA

PROFESOR GUÍA: GUSTAVO FARÍAS R.

PROFESOR CONSEJERO: ANA MARÍA RAMÍREZ K.

PROFESOR CONSEJERO: JOSÉ YAÑEZ L.

SANTIAGO, CHILE

2017

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
Homeostasis y metabolismo de la glucosa	4
Hormonas del páncreas endocrino	6
Glucagón	6
Insulina	6
Acción de la insulina sobre sistemas bioquímicos	8
Determinación de niveles de glucosa sanguínea	9
Condición corporal y control glicémico	111
Diabetes Mellitus	133
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Grupos de estudio	22
Obtención de las muestras	22
Exámenes Complementarios	23
Prueba de tolerancia a la glucosa oral	24
Análisis estadístico.	25
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN.	39
CONCLUSIÓN	51

BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXOS	58
Anexo 1: Ficha clínica	58
Anexo 2. Resumen de resultados	61
Anexo 3. Datos obtenidos con <i>software</i> Infostat®	64

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figuras

Figura 1. Curva de tolerancia de glucosa oral. Promedios de glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos.....	28
Figura 2. Curva de tolerancia de glucosa oral. Comparación de glucosa sanguínea entre control positivo y promedios de todos los animales, con método portátil.....	29
Figura 3. Curva de tolerancia de glucosa oral. Comparación de glucosa sanguínea entre control positivo y promedios de todos los animales, con método <i>Gold Standard</i>	29
Figura 3. Curva de tolerancia a glucosa. Comparación de glucosa sanguínea entre control positivo (método portátil) y promedios obtenidos con método <i>Gold Standard</i>	29
Figura 4. Comparación de la glucosa sanguínea media cuantificada con ambos métodos a los 0 minutos (glicemia basal).	31
Figura 5. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 30 minutos (posteriores a la administración oral de miel).....	32
Figura 6. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 60 minutos (posteriores a la administración oral de miel).....	33
Figura 7. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 120 minutos (posteriores a la administración oral de miel).....	34
Figura 8. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 180 minutos (posteriores a la administración oral de miel).....	35
Figura 9. Glucosa sanguínea a través del tiempo medida con el glucómetro portátil <i>AutoCode</i> ® según condición corporal de los animales.	36
Figura 10. Glucosa sanguínea a través del tiempo medida con el método <i>Gold Standard</i> según condición corporal de los animales.	37

Tablas

Tabla 1. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (0 minutos).....	30
--	----

Tabla 2. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (30 minutos)....	31
Tabla 3. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (60 minutos)....	32
Tabla 4. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (120 minutos)..	33
Tabla 5. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (180 minutos)..	34
Tabla 6. Correlación de Pearson de glucosa sanguínea media con glucómetro portátil.....	36
Tabla 7. Correlación de Pearson de glucosa sanguínea media con <i>Gold Standard</i>	37

RESUMEN

Los glucómetros portátiles de uso humano son útiles para determinar la glucosa sanguínea en caninos, sin embargo, no hay estudios sobre la validación de estos para cuantificar glucosa sanguínea en caninos. Los objetivos que se plantearon fueron: Realizar y comparar una medición de los niveles de glucosa sanguínea en ayuno mediante un glucómetro portátil de uso humano y el método *Gold Standard*. Comparar cuantitativamente ambos métodos a partir de los resultados obtenidos de una curva de glicemia. Determinar la relación existente entre la concentración de glucosa sanguínea y condición corporal de los animales sometidos al estudio.

Se utilizó una población de 20 perros de condición corporal 3/5 y 4/5. Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa oral y se cuantificó la glucosa sanguínea a los 0, 30, 60, 120 y 180 minutos posteriores a la administración de miel a través de un glucómetro portátil y estos valores se compararon con los obtenidos por el método *Gold Standard* a través de la prueba de Friedman. Por otra parte se utilizó la prueba de correlación de Pearson para establecer la asociación entre la condición corporal y la glicemia.

Como resultado se observó que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) a los 0 (11,8%), 30 (15,9%) y 60 (19,9%) minutos posteriores a la administración oral de miel entre ambos métodos y siempre fueron menores los valores obtenidos con el glucómetro portátil. No hubo asociación significativa entre la condición corporal de los animales utilizados en el estudio y la glicemia.

Como conclusión, se recomienda el uso del glucómetro portátil Prodigy AutoCode® para cuantificar glucosa sanguínea en caninos, debido a que las diferencias entre ambos métodos son predecibles, por lo que constituye una herramienta útil en la clínica de animales pequeños.

Palabras claves: Diabetes Mellitus, curva de glucosa, insulino-resistencia, glucómetro portátil

ABSTRACT

Human Portable blood glucose meters are useful for measuring the blood glucose, however, it is necessary to validate this for veterinary use. The aim of this study was to carry out and compare a measurement of glucose levels in a fast using a portable human glucometer and the standard method. Quantitatively compare both methods from the results obtained from a glycemic curve. Determine the relationship between concentration Of blood glucose and body condition of animals subjected to the study.

A population of 21 dogs of 3 and 4 (5) body condition was used. An oral glucose tolerance curve was performed and blood glucose was quantified at 0, 30, 60, 120 and 180 minutes after the administration of honey through a portable glucometer and these values were compared with those obtained by the gold standard method through of the Friedman test. On the other hand, Pearson's correlation test was used to establish or not association between body condition and glycaemia.

As a result it was observed that there were significant differences ($p < 0,05$) at 0 (-11.8%), 30 (-15.9%) and 60 (-19.9%) minutes after oral administration of honey between both methods and were always lower the values obtained with the portable glucometer. There was no significant association between the body condition of the animals used in the study (3 and 4 of 5) and glycemia.

In conclusion, the use of the Prodigy AutoCode® portable glucometer to quantify blood glucose in canines is recommended because the differences between both methods are predictable and therefore a useful tool in the small animal clinic.

Key words: Diabetes Mellitus, glucose curve, insulin resistance, portable glucometer.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que actualmente la población canina en Chile se considera joven (con un promedio de 3,7 años de edad) (Ibarra *et al.*, 2003), a nivel mundial, gracias al avance en la medicina veterinaria de animales de compañía y a la mayor difusión sobre manejos y tenencia responsable de las mascotas, la población canina actualmente es más longeva que hace algunas décadas atrás. Es así como en Europa la cantidad de perros de siete o más años de edad ha aumentado casi un 50% (Anón, 2005).

Dentro de las patologías asociadas a la edad avanzada en los perros, una de las más frecuentes es la Diabetes Mellitus (Catchpole *et al.*, 2005), que se define como una condición de hiperglicemia permanente, asociada a una producción menor de insulina por parte de las células beta pancreáticas, que a largo plazo puede desencadenar complicaciones como presencia de cataratas y nefropatías e incluso podría producir la muerte del animal (Catchpole *et al.*, 2005). A nivel mundial, esta patología tiene una prevalencia que varía entre 0,13% y 2% de la población canina y felina controlada por médicos veterinarios, lo que ha ido aumentando en los últimos años (Case *et al.*, 2011).

En Chile no existen reportes de prevalencia o incidencia de ésta enfermedad en caninos, por lo que no existe un conocimiento real del impacto que produce en éstos. Además, el diagnóstico se realiza por medio del laboratorio clínico, por lo que los resultados no son inmediatos, siendo esto poco práctico para los estados críticos de la enfermedad (Johnson *et al.*, 2009). En algunas clínicas veterinarias, se han utilizado glucómetros portátiles de uso humano para obtener resultados inmediatos, sin embargo, no se conoce con certeza si los niveles de glucosa obtenidos con este equipo se pueden aplicar a la especie canina. Debido a esto, con la presente memoria de título se espera evaluar un glucómetro portátil de uso humano para la obtención de valores glicémicos en la especie canina, analizando su eficiencia y contrastándolo con el método tradicional, contribuyendo de esta forma al diagnóstico rápido de las variaciones glicémicas en caninos producidas, tanto por la Diabetes Mellitus, como por otras causas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Homeostasis y metabolismo de la glucosa

La glucosa sanguínea es el resultado tanto de la absorción gastrointestinal de los carbohidratos, proteínas y grasas consumidos, como de la producción endógena a partir de otros precursores mediante lipólisis, glucogenólisis y gluconeogénesis hepática (Nelson y Couto, 2010). En el primer caso, como resultado de la digestión de los nutrientes a diferentes niveles del tracto digestivo se obtiene finalmente glucosa, fructosa y galactosa, los que son absorbidos a través de la mucosa intestinal mediante transporte activo dependiente de sodio que utiliza un cotransportador de glucosa. La glucosa absorbida abandona la mucosa digestiva en presencia de un transportador de glucosa (GLUT-2), para realizar su transporte al hígado a través de la circulación portal (Kaneko, 2008).

La producción y utilización de glucosa se encuentran reguladas por vías hormonales, neurogénicas y por interacción de citoquinas (Anón, 2005). En términos generales, el incremento en la glucosa sanguínea estimula la secreción de insulina, la que suprime la producción endógena de glucosa y estimula su incorporación a las células (Nelson y Couto, 2010). Cuando la necesidad de energía es baja, la glucosa intracelular es almacenada como glucógeno o grasa en los adipocitos, hígado y músculo. Cuando se produce hipoglicemia se suprime la secreción de insulina y se estimula la liberación de hormonas contraregulatorias como glucagón, epinefrina, norepinefrina, hormona del crecimiento y cortisol, las que producen glucogenólisis, lipólisis y gluconeogénesis, elevando la glucosa sanguínea, los cuerpos cetónicos y ácidos grasos, al igual que algunos mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa (Díaz *et al.*, 2002).

Las proteínas transportadoras de glucosa (GLUT), son pequeñas proteínas de membrana (40-50 kd) que están distribuidas en diferentes células. Los más estudiados son: GLUT-1 (cerebro, eritrocitos, placenta y riñones), GLUT-2 (hígado, células β pancreáticas, células de mucosa), GLUT 3 (cerebro), GLUT 4 (músculo esquelético y cardiaco, adipocitos), GLUT-5 (intestino), GLUT-6 (no identificado) y GLUT-7 (organelos celulares). De estos, el único transportador de glucosa que responde a insulina es GLUT-4, por lo que mediante éste transportador el ingreso de glucosa a las células es facilitado por la insulina (Kaneko, 2008).

El sistema transportador de glucosa a través de la membrana es limitado en velocidad en los tejidos periféricos que son sensibles a insulina (músculo, grasa), por lo que en estas células el transporte es facilitado por GLUT-4. En el hígado, la glucosa se mueve libremente a través de la membrana plasmática, sin embargo también es facilitado particularmente por GLUT-2, presente en la membrana plasmática de estas células (Kaneko, 2008).

Una vez dentro de las células se desarrolla la conversión de estos productos a glucosas fosfatos, que pueden ser almacenadas como glucógeno (principalmente en hígado y músculo), catabolizadas con CO₂ o agua, o volver a la circulación general como glucosa libre (Kaneko, 2008).

El rango normal de glucosa sanguínea en caninos fluctúa entre 70-120 mg/dL, mientras que como valores peligrosos se consideran concentraciones menores a 40 mg/dL (coma o convulsión) o mayores a 1000 mg/dL (síndrome hiperosmolar con disfunción del sistema nervioso central y posible coma) (Nelson, 2011). El hígado ocupa una posición central en la regulación de la concentración sanguínea de glucosa, debido a que la puede suplir y remover del sistema, manteniendo un “estado estacionario” en 8,33 mmol/L (150 mg/dL) de glucosa sanguínea, sin embargo, la dirección principal del metabolismo de la glucosa hepática se dirige hacia el suministro (formación de glucógeno) más que a la utilización de esta (Kaneko, 2008).

En términos generales, la glicemia varía según la cantidad de carbohidratos disponibles (Hewson-Hughes *et al.*, 2011), fibra insoluble y proteínas de la dieta (Anón, 2005). Por otra parte, se describe que con el envejecimiento se altera la tasa metabólica, con lo que se modifica la concentración de insulina basal, se retarda el *peak* insulínico post prandial y se enlentece la absorción de glucosa y su retorno a los niveles basales (Larsen y Farcas, 2014).

Entre las causas de hipoglicemia se describen: hiperinsulinemia (Davison *et al.*, 2005), insuficiencia o inmadurez hepática, deficiencia en hormonas diabetógenas (cortisol), malnutrición, sepsis, neoplasias pancreáticas, síndrome de Addison, hipertiroidismo (Greco, 2012), ejercicio moderado (Piccione *et al.*, 2012), administración de insulina, drogas hipoglicemiantes orales (sulfonilureas, biguanidinas), propanolol, atenolol y etilenglicol (Nelson, 2011).

Entre las causas de hiperglicemia se describen: deficiencias de insulina o deterioro de su acción en tejidos periféricos, aumento en la gluconeogénesis y glucogenolisis, administración de dextrosa (Nelson, 2011) o agonistas beta adrenérgicos (Díaz *et al.*, 2002), aumento de corticoides plasmáticos (Nelson, 2011), aumento de progestágenos sanguíneos de forma iatrogénica, en diestro o preñez (Davison *et al.*, 2005), obesidad (Davison *et al.*, 2005; Verkest *et al.*, 2012), ejercicio prolongado o de alta intensidad y poca duración (Piccione *et al.*, 2012), hipotiroidismo (Nelson, 2011), aumento en los estrógenos, aumento en el glucagón, inhibidores de la anhidrasa carbónica e hiperadrenocorticismo (Nelson, 2011).

Hormonas del páncreas endocrino

Glucagón

Es un polipéptido compuesto por 29 aminoácidos y de un peso molecular de 3,5 Kd, que es secretado por las células α pancreáticas. Posee un efecto hiperglicemiante, aumentando la glucosa sanguínea en 20 mg por cada 1 μ g de glucagón liberado. Su acción se ejerce a través de glucogenolisis hepática que comienza con la adenilciclase, formándose una proteína cinasa que transforma la fosforilasa β en fosforilasa α , que estimula la descomposición de glucógeno en glucosa 1 fosfato (G-1-P). Además, activa a la hormona lipasa de las células adiposas, aumentando la disponibilidad de ácidos grasos para su consumo energético (Díaz *et al.*, 2002). Su liberación es estimulada por los niveles de glucosa sanguínea, aumentando en condición de hipoglicemia y disminuyendo en condición de hiperglicemia, por lo que su efecto es contrario al de la insulina. De forma secundaria, es estimulado por el aumento de los aminoácidos sanguíneos, en especial por alanina y arginina (Díaz *et al.*, 2002).

Insulina

Es una hormona compuesta por dos cadenas polipeptídicas (A y B), que es secretada por las células β de los islotes de Langerhans presentes en el páncreas endocrino. Bajo condiciones fisiológicas, 4 moléculas de insulina forman un tetrámero, que corresponde a la forma activa de la molécula. Su vida media en circulación es de 5 a 10 minutos. El hígado es su principal sitio de degradación y una pequeña parte se degrada en el riñón y es eliminado en la orina (Kaneko, 2008).

La liberación de insulina es estimulada por la glucosa, que es el principal regulador de su síntesis y liberación, además de aminoácidos, hormonas (glucagón, gastrina, secretina, pancreozimina) y drogas (sulfonilurea, isoproterenol). La liberación de insulina es bifásica, así la primera fase corresponde a la liberación de la insulina ya formada y la segunda a la síntesis de novo. Por otra parte, se ha estudiado la influencia de varias hormonas gastrointestinales sobre la secreción de insulina formando de esta manera un eje entero-insular (Kaneko, 2008), que constituiría un sistema regulador, en donde la secreción desde los islotes pancreáticos puede ser modificada también por hormonas gastrointestinales (Brown y Otte, 1979) como son: secretina, colecistoquinina/pancreozimina (CCK-PZ), gastrina, hormonas con actividad de glucagón (GLA-GLP) del estómago y el péptido inhibidor gástrico (GIP), que es considerado el estimulador más importante en el eje entero-insular (Kaneko, 2008). La cercanía entre las células que originan éstas hormonas y los sitios de absorción de los nutrientes, sugiere que su secreción está relacionada con la ingesta de alimento y que existe una tasa basal de secreción. Es así que grandes cantidades de alimento que contengan nutrientes complejos estimulan la secreción intestinal de GLP-1 y GIP (Larsen y Holts, 2005). Por otra parte, su concentración también se relaciona con la velocidad de vaciamiento gástrico, por una relación positiva entre ambas variables (Larsen y Holts, 2005). El efecto insulínico dependiente de glucosa de estas hormonas es dosis dependiente. De esta manera, se sugiere que la concentración de glucosa sanguínea mínima necesaria para producir el efecto del GIP en ratas y humanos es de 5,5 mmol/L y 25 mg/dL, respectivamente. En estas y otras especies animales se ha demostrado que la acción insulínica del GIP, actúa tanto en la fase inicial (efecto transitorio) como en la segunda fase de la liberación de insulina (efecto prolongado) (Brown y Otte, 1979).

La síntesis de insulina deriva de la proinsulina, que es un polipéptido enrollado de cadena simple, unido por puentes disulfuros, que contiene aproximadamente 78 residuos de aminoácidos en el canino y su peso molecular es cercano a los 90 Kd. Es sintetizada en el retículo endoplasmático rugoso de las células β pancreáticas y almacenado en el aparato de Golgi. El polipéptido central de esta molécula (péptido C), es removido por enzimas proteolíticas y liberado a la circulación, en donde no posee actividad biológica. Los dos fragmentos terminales unidos corresponden un monómero de insulina, que es cristalizada

con zinc, para su almacenaje en los gránulos secretores de las células β pancreáticas (Kaneko, 2008).

En la circulación sistémica la insulina es transportada unida a una β globulina. En los tejidos se une a los receptores de la membrana para ingresar a las células. Todas las células (especialmente hepatocitos y adipocitos), son capaces de inactivar la insulina mediante fragmentación reductora (Kaneko, 2008).

Acción de la insulina sobre sistemas bioquímicos

La insulina incrementa la utilización de glucosa y disminuye la producción hepática y la glucogenolisis (Kaneko, 2008). Primero se une a sus receptores en las células blanco y así facilita la entrada de glucosa (principalmente a células musculares y adipocitos), por activación del transportador GLUT-4. Las células hepáticas son permeables a la glucosa, en cambio, el transportador GLUT-2 presente en ellas no es regulado en forma significativa por parte de la insulina (Kaneko, 2008). En las fases iniciales del metabolismo de la glucosa, la insulina regula la activación y velocidad de reacción de la enzima glucoquinasa (GK), que cataliza la fosforilación de la glucosa para formar glucosa 6 fosfato (G-6-P), y participa en otras fosforilaciones claves que potencian el metabolismo y utilización de la glucosa. Además, incrementa la actividad del sistema piruvato deshidrogenasa, con lo que aumenta la producción de AcetilCoA, promoviendo la fosforilación oxidativa y la oxidación de CO_2 vía ciclo de Krebs (Kaneko, 2008). En las células nerviosas, la insulina se une a receptores y promueve el transporte de glucosa a través de la membrana, pero en este caso, el transporte de glucosa es limitado (1,5 mmol/L o 27 mg/dL), por lo que aunque el sistema hexoquinasa esté funcionando al máximo pueden aparecer síntomas de hipoglicemia. En otras células, como los eritrocitos, que poseen también un sistema hexoquinasa, la insulina no afecta el metabolismo ni limita el transporte de la glucosa (Kaneko, 2008).

El control direccional para la producción o utilización de glucosa es regulado por conjuntos acoplados de reacciones enzimáticas opuestas e irreversibles en 3 puntos del metabolismo de la glucosa. Estas enzimas claves son GK/Glucosa 6 fosfatasa (G-6-Pasa), Fosfofructoquinasa (PFK)/Fructosa 1-6 bifosfatasa (F-1-6-Pasa) y Fosfoquinasa (PK)/Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEP-CK). Las quinasas dirigen el metabolismo

hacia la utilización de la glucosa y las enzimas opuestas revierten la dirección, por lo que son gluconeogénicas. La reacción G-6-Pasa incrementa durante el ayuno, con lo que se favorece la producción de glucosa hepática (Kaneko, 2008).

Determinación de niveles de glucosa sanguínea

Los métodos directos involucran la curva de glicemia y el monitoreo continuo. Para la curva de glicemia se requiere tomar una muestra de sangre cada un período constante de tiempo, utilizando analizadores automáticos o semiautomáticos, que cuantifican la concentración de glucosa sanguínea mediante una reacción química enzimática, considerándose esto como el método *Gold Standard* (Johnson *et al.*, 2009). Existen tres tipos de reacciones enzimáticas utilizadas para cuantificar los niveles de glucosa sanguínea: Glucosa oxidasa (GO), Hexoquinasa (HK) y Glucosa deshidrogenasa (GD).

La reacción GO está acoplada con la peroxidasa y un color. Esta enzima cataliza la conversión de glucosa a ácido glucónico más peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Este último compuesto es oxidado por la peroxidasa y forma un producto coloreado y catalítico, que corresponde a un ánodo de platino (Pt), que puede ser medido espectrofotométricamente o por los electrones transferidos, que son proporcionales al número de moléculas de glucosa presentes en la sangre. Este método también es utilizado en las tiras reactivas de orina para detectar glucosuria (Kaneko, 2008; Yoo y Lee, 2010).

En la reacción de la HK, la enzima cataliza la fosforilación de glucosa, quedando como producto G-6-P, el que reacciona con NADP y se obtiene NADPH. Así, se puede medir NADP o NADPH mediante espectrofotometría (Kaneko, 2008).

En la reacción GD, la enzima cataliza la conversión de glucosa a glucolactona utilizando como cofactor el NAD, con lo que se libera una molécula de NADH, el que puede ser medido espectrofotométricamente al igual que el NAD (Kaneko, 2008).

En todos los casos antes descritos, para una óptima cuantificación de glucosa, el plasma o suero debe ser separado lo antes posible de los eritrocitos para evitar su utilización por los mismos. Si esto no es posible, la muestra de sangre debe ser conservada en un tubo con

Fluoruro de sodio (NaF), el que actúa como anticoagulante y conservante de glucosa por un período aproximado de 1 hora (Kaneko, 2008; Yoo y Lee, 2010).

Debido a que los resultados de laboratorio suelen ser tardíos, y por lo tanto, perjudicial para el paciente en estado crítico, se ha comenzado a utilizar glucómetros portátiles, con los que se logran obtener resultados inmediatos con una pequeña cantidad de sangre (Domori *et al.*, 2014), y que utiliza las mismas reacciones enzimáticas para cuantificar la glucosa sanguínea, pero a través de otros mecanismos. Las tiras reactivas de los glucómetros portátiles poseen una membrana porosa que separa los eritrocitos para que se cuantifique la glucosa sanguínea en el plasma. Para esto utilizan la reacción glucosa deshidrogenasa (GD) (Johnson *et al.*, 2009), o glucosa oxidasa (GOD), para cuantificar la glucosa sanguínea mediante técnicas colorimétricas o mediante la cuantificación con un electrodo de los electrones provenientes de la formación de un producto catalítico a partir del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (Domori *et al.*, 2014). Con respecto a éstas últimas, ambas metodologías han sido correlacionadas positivamente con los resultados obtenidos mediante el método químico *Gold Standard* para la especie canina, especialmente con la segunda técnica mencionada ($r=0.94$; $P<0.01$) (Domori *et al.*, 2014).

A pesar de que actualmente existen glucómetros portátiles de uso veterinario, en la mayoría de las clínicas veterinarias en nuestro país, se ha comenzado a utilizar glucómetros portátiles de uso humano, para cuantificar la glicemia en la especie canina debido principalmente a su mayor disponibilidad en el mercado y menor costo. Sin embargo, a nivel nacional no existen estudios que comparen los resultados obtenidos con ambos glucómetros, aunque estudios en EEUU señalan que al comparar las glicemias obtenidas con el glucómetro de uso humano y el destinado a la especie canina existe una diferencia aproximada de -15,8 mg/dL y de +1,4 mg/dL con el método químico, respectivamente (Johnson *et al.*, 2009). Por otra parte, los resultados obtenidos con ambos equipos portátiles se ubican dentro de las zonas A o B en el análisis del error (Domori *et al.*, 2014).

El monitoreo continuo cuantifica la concentración de glucosa sanguínea mediante la utilización de una sonda colocada en el espacio subcutáneo dorsal del animal, conectado

con un programa computacional, el cual realiza mediciones de la glucosa cada cinco minutos (Cook, 2012).

Los métodos indirectos involucran la estimación de la cantidad de agua ingerida, cuantificación de la glucosa urinaria (Cook, 2012), o medición de la concentración de proteínas. Estas últimas tienen la ventaja de reflejar cambios de largo plazo en la regulación de la glucosa sanguínea (Loste y Marca, 2001; Cook, 2012), indicando hiperglicemia persistente desde las dos (Fructosamina), a las seis semanas (Hemoglobina glicosilada) (Loste y Marca, 2001).

Condición corporal y control glicémico

La obesidad es el desorden nutricional más común y la más importante enfermedad endocrina en los caninos, que es influenciada por el estatus socioeconómico, la edad del propietario, el tipo de alimentación y la cantidad de ejercicio realizado por la mascota (Hoenig, 2014).

Para evaluar el estado nutricional existen dos métodos principales, el más utilizado es el índice de condición corporal (ICC), que mide la grasa corporal mediante varios sistemas numéricos, teniendo como meta un ICC de 2,5-3 de 5, o 4-5 de 9 (Baldwin *et al.*, 2010). Éste índice se puede analizar a través de la existencia de guías internacionales. Respecto al riesgo de padecer enfermedades concomitantes, se describe que este aumenta por sobre un ICC de 3,5 de 5, o 6 de 9. Otro método utilizado, es el índice de condición muscular (ICM), que evalúa la masa muscular, incluyendo el examen visual y la palpación de los huesos temporales, vértebras lumbares y huesos pélvicos, lo que permite detectar el tipo y curso de alguna enfermedad concomitante. Clínicamente, ambos índices no están directamente relacionados (Baldwin *et al.*, 2010).

En la obesidad ocurre un desbalance entre la producción y la concentración de algunas adipocinas producidas por el tejido adiposo, lo que contribuye a varias anomalías metabólicas (Kil y Swanson, 2010).

La adiponectina mejora la sensibilidad a la insulina, mediante el aumento en la oxidación de los carbohidratos y las grasas en los tejidos periféricos, suprimiendo la gluconeogénesis hepática e inhibiendo la respuesta inflamatoria. Además, se sabe que existen receptores para esta adipoquina en los hepatocitos, músculo esquelético y células β pancreáticas, desde donde ejercerían su efecto positivo en la sensibilidad a la insulina (Verkest *et al.*, 2011). Aunque es la adipoquina mas abundantemente producida por el tejido adiposo, la obesidad disminuye su concentración a través del aumento en la inhibición de su secreción por parte de las citoquinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e interleuquina 6 (IL-6), factores que aumentan su concentración debido al aumento en la masa grasa del animal. Por otra parte, la obesidad probablemente disminuye la expresión de los receptores de adiponectina en músculo e hígado, generando adiponectino-resistencia, que está altamente relacionada con la insulino resistencia y la Diabetes Mellitus en la especie canina (Kil y Swanson, 2010).

Con respecto a la concentración de leptina, está positivamente relacionada con la obesidad, la que tiene efectos opuestos a la adiponectina. En humanos con obesidad se ha descrito el aumento en la concentración de resistina, la que tiene efectos antagónicos a los de la insulina. Sin embargo, en caninos y felinos no se ha estudiado la expresión de esta adipoquina (Kil y Swanson, 2010).

A lo largo de los años y en distintos estudios realizados en la especie canina, existe un desacuerdo entre los autores, en la valoración de la obesidad como factor de riesgo para el desarrollo de Diabetes Mellitus en esta especie. En algunos estudios se describe que la obesidad puede generar insulino resistencia y progreso al desarrollo de Diabetes Mellitus, a través de la disminución de la concentración de adiponectina, además de disminuir la expresión de sus receptores y de aumentar su inhibición por parte de citoquinas inflamatorias, resultando en una disminución de la oxidación de los carbohidratos, disminuyendo su actividad antiinflamatoria y generando insulino-resistencia. Sin embargo, en otros realizados en caninos obesos, no se ha visto asociación entre esta adipoquina y la obesidad, ni con los cambios en la sensibilidad a la insulina (Verkest *et al.*, 2011). Además, se sabe que los perros obesos tienen mayor predisposición a desarrollar pancreatitis, lo que

también es considerado un factor de riesgo para la presentación de Diabetes Mellitus tipo 1 (Verkest *et al.*, 2011). Por otra parte, se ha descubierto que la especie canina podría estar protegida de la progresión a esta enfermedad, gracias a varios factores, donde el principal es el aumento en la concentración de insulina para compensar la insulino-resistencia, por lo que actualmente no existe una postura clara frente al tema.

Diabetes Mellitus

Es un estado de hiperglicemia crónico asociado a un déficit parcial o total de insulina (Greco, 2012). Se trata de una enfermedad multifactorial, existiendo factores ambientales y genéticos que aumentan o disminuyen su presentación en animales (Davison *et al.*, 2005). Con respecto a éstos últimos, se sabe que ciertos haplotipos DLA otorgan a los caninos riesgos de padecer la enfermedad, mientras que otros brindan protección y un bajo riesgo de padecer Diabetes Mellitus. Aunque se ha investigado la influencia de las asociaciones de genes MHC, no son específicas de la enfermedad y se han encontrado también como factor de riesgo de padecer hipotiroidismo e hipoadrenocorticismismo (Hoenig, 2014). Por otra parte, partículas virales de individuos que han presentado la enfermedad la han reproducido en ratas (Kaneko, 2008). La principal causa propuesta para esta enfermedad en los caninos, es la destrucción inmunomediada del páncreas, que impide una secreción suficiente de insulina por parte de las células β (Greco, 2012).

Debido a la similitud en ciertas características a la Diabetes Mellitus humana, se ha propuesto la misma clasificación en los caninos.

Diabetes Mellitus tipo 1 (insulinodependiente): en este caso existe ausencia absoluta de insulina endógena con un grado de progresión variable, a menudo es causada por la ausencia de células β pancreáticas debido a pancreatitis subyacente (Case *et al.*, 2011), hipoplasia o atrofia de las células β , infecciones y enfermedad idiopática (Hoenig, 2014). Sin embargo, la principal causa se asocia a una destrucción inmunomediada por parte de células T y anticuerpos (Hoenig, 2014). Durante la fase temprana de la destrucción de las células se estimula la migración de células inmunes a éstas, entre ellas los linfocitos T CD8 y macrófagos (que también se encuentran en la fase tardía) y las células CD20 son reclutadas a los islotes a medida que progresa la muerte celular (Hoenig, 2014). Una vez

que se completa la destrucción de las células β y los islotes pancreáticos se tornan insulino-deficientes, el número de células inmunes disminuye, por ende estas solo están presentes mientras existen células β viables (Hoenig, 2014). Además existe evidencia de que los caninos diabéticos poseen anticuerpos contra una isoforma de la ácido glutámico descarboxilasa de 65 kDa, también contra el antígeno 2 asociado al insulinoma y anticuerpos contra insulina, hallazgos que coinciden con lo presentado en la enfermedad en los humanos (Hoenig, 2014).

El patrón de secreción de insulina se caracteriza por la ausencia o muy bajas concentraciones de insulina plasmática inicial y no existe respuesta a la carga de glucosa al realizar una curva de tolerancia (Kaneko, 2008).

Se ha sugerido que la Diabetes Mellitus canina es similar a la Diabetes latente autoinmune en humanos (LADA), sin embargo a pesar de que ambas se desarrollan en edades avanzadas, en el humano se presenta inicialmente sin dependencia de insulina exógena, lo que no ocurre en los caninos y en los pacientes LADA se ha encontrado insulinitis, lo que no es tan frecuente en los perros diabéticos (Hoenig, 2014).

Diabetes Mellitus tipo 2 (insulino-independiente): en este caso la alteración puede estar en la secreción de insulina, insulino resistencia o depósitos amiloides en el páncreas, lo que puede progresar a la destrucción de las células pancreáticas (Diabetes Mellitus tipo 1) (Case *et al.*, 2011). Se caracteriza por un nivel inicial de insulina plasmática normal o alta, sin respuesta a la carga de glucosa (Kaneko, 2008). Se conoce que la relación entre la sensibilidad a la insulina y la secreción de esta es hiperbólica, lo que significa que individuos con poca sensibilidad insulínica secretan una mayor cantidad para mantener una tolerancia a la glucosa normal. No se conocen los eventos que generan el punto en el cual la insulina se vuelve ineficiente para sobrepasar la insulino resistencia y mantener un control glicémico normal.

Entre las causas que generan insulino resistencia se describen:

a) Hipersomatotropismo (acromegalia): síndrome clínico producido por el aumento de la secreción de la hormona del crecimiento, causando insulino resistencia. El aumento de los progestágenos endógenos o exógenos, causan un aumento en la secreción de la hormona del crecimiento, en este caso desde el epitelio hiperplásico de la glándula mamaria que es idéntica a la secretada por la hipófisis, sin embargo esta no se secreta de manera pulsátil, no es inhibida por la somatostatina y no responde a la hormona liberadora. Algunas hembras mayores desarrollan diabetes debido al aumento normal de los progestágenos en el diestro, lo que sugiere que la cantidad de células β es marginal y la secreción de insulina es suficiente solo cuando las hembras no se encuentran en diestro. La reversión de esta insulino resistencia dependerá de cuan dañadas estén las células β por la hiperglicemia persistente, por ejemplo si la hembra ha sido esterilizada tempranamente (Hoenig, 2014).

b) Hiper cortisolismo: puede ser de origen hipofisiario, adrenal o exógeno y se describe que es la principal causa de diabetes Mellitus tipo 2 en los caninos. Los efectos del cortisol interfieren en el metabolismo y se oponen a los de la insulina, generando hiperinsulinemia e insulino resistencia. Además, incrementa la producción endógena de glucosa a través de la gluconeogénesis, lipólisis y proteólisis. Si esta condición permanece a largo plazo, se puede generar el agotamiento de las células β y su destrucción. En perros que lo presentan en conjunto con la Diabetes Mellitus es imposible saber que enfermedad ocurrió primero, ambas se presentan en edad media a avanzada y tienen signos clínicos similares (Hoenig, 2014).

c) Hipotiroidismo: a pesar de que genera insulino resistencia, no se ha descrito el progreso al desarrollo de la Diabetes Mellitus, ya que estos presentan generalmente un nivel más alto de insulina. El porcentaje de perros que presentan ambas enfermedades en forma concomitante es bajo (4%) (Hoenig, 2014).

d) Feocromocitoma: neoplasia secretadora de catecolaminas que se origina en el tejido adrenal o extra adrenal, las que pueden generar insulino resistencia o supresión de la secreción de insulina, sin embargo, un bajo porcentaje de casos se relaciona con la Diabetes Mellitus (3%) (Hoenig, 2014).

e) Obesidad: es el principal factor de riesgo en la Diabetes Mellitus humana y felina, pero no está documentado como un factor de riesgo para la especie canina (Verkest *et al.*, 2012; Hoenig, 2014). Se necesitan más estudios y datos epidemiológicos para descartar esta posibilidad, puesto que en Estados Unidos ha aumentado la incidencia de ambas condiciones en los últimos años, sugiriendo una posible relación (Hoenig, 2014). La obesidad disminuye la accesibilidad de la insulina para actuar en el músculo esquelético, lo que produce disminución de la sensibilidad a la insulina e insulino resistencia, que es más marcado en perros de edad avanzada (Kil y Swanson, 2010). Esto se asocia al aumento en la concentración de leptina, que inhibe la función de la insulina en varios tejidos insulino dependientes. En humanos, también se atribuye a un aumento en la concentración de ácidos grasos libres y citoquinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral e interleuquina 6, pero no se ha documentado en caninos (Kil y Swanson, 2010).

f) Enfermedades del páncreas exocrino: la inflamación aguda severa o crónica del páncreas puede generar varios grados de destrucción de los islotes pancreáticos y Diabetes Mellitus transiente o permanente. Existe una fuerte correlación entre pancreatitis e hiperlipidemia en el Schnauzer miniatura en Estados Unidos, raza propensa a desarrollar Diabetes Mellitus (Hoenig, 2014).

Diabetes Mellitus tipo 3: es el resultado de una enfermedad primaria o por la terapia con drogas que producen insulinoresistencia (hiperadrenocorticismo, hipotiroidismo, acromegalia, progestágenos o destrucción del tejido pancreático) (Greco, 2012). Se caracteriza por un nivel inicial de insulina plasmática normal, con respuesta normal o retardada a la carga de glucosa y un regreso retardado de esta a sus niveles normales a los 60 minutos posteriores a la carga de glucosa. A pesar de que en el tipo 2 hay un exceso de glucagón y que éste puede modificar el control glicémico, por si solo no se considera un factor diabetógeno (Kaneko, 2008).

Fisiopatológicamente, un déficit de insulina genera una menor utilización de la glucosa por tejidos periféricos, activándose los mecanismos compensatorios para aumentar la glucosa

sanguínea mediante gluconeogénesis y glucogenolisis a pesar de que existe hiperglicemia (Feldman y Nelson, 2004; Greco, 2012), generándose así la diuresis osmótica. Además, la no utilización de la glucosa por los tejidos, sumado a la pérdida de calorías mediante la glucosuria genera polifagia y pérdida de peso respectivamente (Feldman y Nelson, 2004). Por otra parte, la deficiencia de insulina genera catabolismo protéico que contribuye a la gluconeogénesis hepática, además de la activación de la hormona lipasa sensible, que produce cuerpos cetónicos (Feldman y Nelson, 2004). Como resultado de este proceso, los signos clínicos derivan de la alteración del metabolismo de los carbohidratos, grasa y proteínas. Los primeros signos clínicos observados son poliuria, polidipsia y polifagia. Según la progresión pueden existir cataratas y daño renal en algunos pacientes (Case *et al.*, 2011). Puede desarrollarse polineuropatía, presentándose depresión, debilidad e incontinencia urinaria o fecal (Feldman y Nelson, 2004). En una crisis hipoglicémica (cetoacidosis), se describen signos clínicos agudos como anorexia, letargia, vómitos, diarrea y posición plantígrada. Además, pueden existir hepatomegalia y estado de coma (Nelson, 2011; Greco, 2012). Con respecto a los cambios patológicos, a pesar de que existe destrucción autoinmune de las células β pancreáticas, no es frecuente encontrar infiltración linfocítica de los islotes pancreáticos post mórtem (Hoenig, 2014). Esto se debe a que, dicho proceso puede ocurrir en las etapas tempranas de la enfermedad, así, no se encuentran al momento de realizar el diagnóstico clínico, aunque tampoco se ha encontrado en perros diabéticos jóvenes, en donde es frecuente encontrar fibrosis periductal y perivascular (Hoenig, 2014). Los hallazgos más característicos son la disminución en el tamaño de los islotes, lo que sugiere un desarrollo anormal de estos, la ausencia de los islotes y el reemplazo de estos por tejido fibroso. También es posible encontrar esclerosis intersticial asociada a la pérdida generalizada de células acinares, lo que sugiere pancreatitis como causa subyacente (Hoenig, 2014). Se concuerda en una marcada reducción de las células β , con degranulación evidente y presencia de cambios hidrópicos, mientras que el número de células α y δ se mantienen normales en un 70 y 85% respectivamente (Hoenig, 2014).

Diagnóstico

Se basa en la combinación de antecedentes anamnésicos, signos clínicos y resultados de exámenes de laboratorio. Entre estos últimos, el hemograma suele ser normal, en el perfil bioquímico se describe hiperglicemia persistente en ayuno, azotemia, hipercolesterolemia y enzimas hepáticas elevadas. Además, en estado de cetoacidosis también se puede presentar hiponatremia, hipofosfatemia, hipocarbonatemia e hipocalcemia (Greco, 2012). En el urianálisis existe densidad urinaria variable, glucosuria, cetonuria, proteinuria y bacteriuria (Nelson y Couto, 2010; Case *et al.*, 2011).

La curva de tolerancia a la glucosa, se utiliza para detectar intolerancia a la glucosa con hiperglicemia persistente por debajo del umbral renal que no presentan signología clínica, por lo que es una herramienta muy útil para detectar estados prediabéticos en los animales (Sandhu *et al.*, 1999; Kaneko, 2008). Se puede realizar por vía endovenosa, en que se toma una muestra de sangre en ayuno (12-16 horas), para cuantificar los niveles basales de glicemia, luego se administra glucosa endovenosa en una dosis de 0,5 g/kg de peso del animal, en una solución al 50% durante 30 segundos, para comenzar a tomar muestras de sangre a los 5, 15, 25, 35, 45 y 60 minutos después de la infusión. Los resultados se representan en coordenadas semilogarítmicas, donde la vida media de la glucosa ($T_{1/2}$) fluctúa entre los 15 a 45 minutos después de la infusión. A partir de esta se calcula la tasa de fraccionamiento (disminución) de la glucosa (K). En caninos la $T_{1/2}$ y el valor K promedio es de 25 ± 8 minutos y $2,76 \pm 0,91\%$ por minuto, respectivamente. En un diabético con una baja tolerancia a la glucosa, la vida media es mayor y el valor K es menor. Se prefiere esta prueba, debido a que no se sobrecarga al animal con glucosa, la dosis es estándar y las influencias individuales son menores.

La curva de tolerancia a la glucosa por vía oral, permite la estimulación de la secreción del péptido glucagón “like” (Sandhu *et al.*, 1999), que es insulino trópico dependiente de glucosa e insulina, estimulando la síntesis y secreción de esta última y suprimiendo además la liberación de glucagón y somatostatina, con lo que se mejora el control glicémico en los caninos (Sandhu *et al.*, 1999) y por ende, ayuda a estimar de mejor manera la sensibilidad a la insulina (Miceli *et al.*, 2014). Consiste en la administración de un bolo de glucosa oral, en

dosis de 4 g/kg de peso, seguido por la cuantificación de los niveles de glucosa sanguínea a distintos tiempos, en donde la concentración corresponde al área bajo la curva (Irvine *et al.*, 2002).

Durante la fase de absorción (fase 1), la tasa de entrada de glucosa a la circulación sistémica excede la removida, aumentando la concentración sanguínea, con lo que la salida de glucosa desde el hígado es inhibida y se estimula la liberación de insulina desde de las células β pancreáticas. Esta liberación de insulina también es influenciada por el efecto de hormonas gastrointestinales, como secretina, colecistoquinina-pancreozimina (CCK-PZ), gastrina y glucagón pancreático (Kaneko, 2008). El *peak* normal de glucosa sanguínea en esta prueba se alcanza a los 30-60 minutos de la administración oral, para posteriormente empezar a disminuir en forma paulatina. Durante la fase de caída (fase 2), la tasa de remoción de glucosa excede a la entrada de esta en la circulación y los mecanismos de remoción están operando a capacidad máxima. Al mismo tiempo, la salida de glucosa desde el hígado disminuye y cae la glucosa sanguínea rápidamente. Cuando la glucosa alcanza su nivel basal, por un corto período disminuye por debajo de este para regresar al nivel basal. Esta fase hipoglicémica (fase 3), es producida por la inercia de los mecanismos regulatorios, y se sabe que cuanto mayor es la hiperglicemia, mayor es la hipoglicemia posterior (Kaneko, 2008). La incapacidad de la glucosa para regresar al valor sanguíneo basal dentro de las dos primeras horas es indicativo de un estado prediabético (Irvine *et al.*, 2002).

Existen varios tipos de pruebas que miden la respuesta glicémica como es la prueba de tolerancia a la insulina, que mide la respuesta de la glucosa después de la administración de insulina a una dosis conocida, lo que mide la sensibilidad de la glucosa sanguínea a la insulina y además la respuesta del animal a la hipoglicemia inducida. Otras pruebas corresponden a: la prueba de estimulación del glucagón, la de tolerancia a la epinefrina y la de hipoglicemia inducida por leucina (Kaneko, 2008). Por otra parte, se puede conocer el estado metabólico del paciente midiendo cuerpos cetónicos, de los cuales el más utilizado es la medición del β hidroxibutirato (Kaneko, 2008).

De todas las pruebas mencionadas, las más utilizadas son la de tolerancia a la glucosa oral o endovenosa y la prueba de tolerancia a la insulina. En este último caso, se evalúa la respuesta glicémica a la insulina y la resistencia del paciente a la hipoglicemia inducida, por lo que utilizarla podría poner en riesgo la vida del paciente si no se cumple con las condiciones necesarias. Debido a esto, se prefiere utilizar la prueba de tolerancia a la glucosa, ya que es más seguro para la salud del paciente (Kaneko, 2008).

En la presente memoria de título se realizó una curva de glicemia en animales con distinta condición corporal, en donde se cuantificó el nivel de glucosa sanguínea mediante dos métodos distintos, con el objetivo de evaluar el uso de un nuevo método de diagnóstico rápido de variaciones glicémicas utilizando un glucómetro portátil de uso humano, además de relacionar la influencia de la condición corporal de los animales en el desarrollo de patologías endocrinas como la insulino resistencia en caninos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de un método rápido para la determinación de glucosa sanguínea en caninos, contribuyendo al estudio del diagnóstico de la Diabetes Mellitus canina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar y comparar una medición de los niveles de glucosa sanguínea en ayuno mediante un glucómetro portátil de uso humano y el método *Gold Standard*.
2. Comparar cuantitativamente ambos métodos a partir de los resultados obtenidos de una curva de glicemia.
3. Determinar la relación existente entre la concentración de glucosa sanguínea y condición corporal de los animales sometidos al estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Fisiopatología del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Se utilizó una población de 20 perros mestizos clínicamente sanos de entre uno y doce años de edad. Se clasificaron como aptos para someterse al estudio, aquellos que fueron considerados sanos, basándose en el resultado del examen físico, clínico e historial médico sin antecedentes de enfermedades previas y exámenes complementarios como hemograma completo, perfil bioquímico y urianálisis (análisis físico y químico), registrándose todos los datos en una ficha clínica previamente elaborada (Anexo 1). Todos los animales fueron alimentados con una dieta similar, que consistió en extruído comercial de diferentes marcas, la que se mantuvo durante todo el período de estudio y fue distribuida en dos porciones al día por animal, cumpliendo los requerimientos nutricionales para la especie, edad y condición general (Wakshlag y Shmalberg, 2014). Además, dispusieron de agua de manera *ad libitum*.

Grupos de estudio

Los animales fueron distribuidos según condición corporal en dos grupos: normal (condición corporal 3/5) y sobrepeso (condición corporal 4/5), donde se obtuvieron muestras de sangre de 12 y 8 caninos de cada grupo, respectivamente. La clasificación de estos se realizó de acuerdo al criterio de tres evaluadores según la guía de evaluación nutricional de perros y gatos de la Asociación Americana Hospitalaria de Animales (AAHA) (Baldwin *et al.*, 2010). (Anexo 1).

Obtención de las muestras

Después de un período de ayuno de 12 horas aproximadamente en todos los animales, se realizaron todas en un mismo día, para de ésta manera minimizar problemas de transporte y estrés en las mascotas. Una vez ingresado el paciente se recopilaron los datos anamnésicos (remotos y actuales) por parte del propietario, además de informar al mismo sobre el

procedimiento. Luego de autorizado por el propietario, se comenzó a tomar las muestras para los exámenes complementarios:

Exámenes Complementarios

1. Muestra de sangre: se obtuvieron 5 ml de sangre desde la vena cefálica del miembro anterior con una jeringa de 5 ml y aguja de 21G. Luego, se colocaron 2 ml en un tubo con anticoagulante (EDTA) y 2 ml en un tubo sin anticoagulante para la posterior realización del hemograma completo y perfil bioquímico, respectivamente. Además, se colocó 1 ml de sangre entera en un tubo con Fluoruro de Sodio (NaF) y una gota de la misma en una tira reactiva para determinar glucosa sanguínea mediante el método *Gold Standard* y glucómetro portátil (glicemia basal tiempo 0).

Los parámetros que se midieron en el hemograma completo fueron: eritrocitos/uL, hemoglobina (g/dL), VGA (%), VCM (Ft), CHCM (g/dL), leucocitos/uL y recuento diferencial y plaquetas/uL (Tvedten, 1994), para lo que se utilizó un contador hematológico automatizado (VetScan Abacus Junior Vet®).

Para el perfil bioquímico se extrajo el suero de las muestras de sangre obtenidas mediante una centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos (centrífuga Kubota Microlab 100®, Merck). Los parámetros fueron medidos a través de una técnica colorimétrica y estos fueron: proteína sérica (g/dL), albúmina (g/dL), globulinas (g/dL), bilirrubina total (mg/dL), bilirrubina directa e indirecta, creatinina (mg/dl), nitrógeno ureico (mg/dL), fosfatasa alcalina (U/L), ALT (U/L), GGT (U/L) (Turnwald y Willard, 1994).

2. Muestra de orina: se realizó mediante micción espontánea y cistocéntesis, para lo que se utilizó una jeringa de 10 ml y una aguja de 21G, comenzando inmediatamente con el análisis físico (color y turbidez) para luego realizar el examen químico a través del uso de una tira reactiva (Urine Strip®, Wiener Lab), donde se midió densidad, pH, proteínas, glucosa, cetonas, bilirrubina, urobilinógeno y hemoglobina.

Prueba de tolerancia a la glucosa oral

Se realizó inmediatamente después de tomar las muestras para los exámenes complementarios. Después de obtenida la muestra de sangre para la cuantificación de la glicemia basal (tiempo 0), se administró vía oral miel de abeja en una dosis de 4g/kg de peso, debido a que esta tiene mejor tolerancia y aceptabilidad por parte del canino. Nuevamente se obtuvieron muestras de sangre (2 mL) a los 30, 60, 120 y 180 minutos posteriores a la administración de la solución oral (Miceli *et al.*, 2014). Dichas muestras se obtuvieron desde la vena cefálica de uno de los miembros anteriores. Se colocó una gota de sangre entera en la tira reactiva (2 repeticiones), para ser analizada inmediatamente por el glucómetro portátil *AutoCode*® (previamente calibrado y revisada la integridad de las tiras reactivas). El resto de la muestra fue colocada en un tubo con fluoruro de sodio para ser analizada con el método *Gold Standard* (GS). De cada animal se obtuvo en cada tiempo dos muestras para ser analizarlas con el glucómetro *AutoCode*® (AC) y en forma paralela una muestra para la cuantificación de glucosa sanguínea mediante el método *Gold Standard*, minimizando de esta forma los errores en las mediciones. Todos los resultados de las mediciones se registraron en una tabla previamente elaborada para cada individuo (Anexo 2).

El glucómetro portátil de uso humano *Prodigy AutoCode*® determina la glucosa sanguínea mediante una corriente eléctrica que se produce al mezclar la sangre con un reactivo de la tira de la prueba. La corriente eléctrica cambia con la cantidad de glucosa presente en la sangre, por lo que el glucómetro mide la resistencia de la corriente eléctrica, calcula la glicemia y muestra el resultado obtenido en mg/dL o mmol/L. Requiere 1 gota de sangre aplicada directamente sobre la tira reactiva. El rango de glicemia que detecta está entre 20 mg/dL y 600 mg/dL. Con respecto a la precisión del equipo, los valores obtenidos varían en un 20%. Los resultados se obtienen en aproximadamente seis segundos.

El Método *Gold Standard* se realizó posterior a la centrifugación de la sangre (Kubota®) mediante un análisis espectrofotométrico (Glucosa Liquiform®, Labtest) utilizando una reacción del tipo glucosa oxidasa (Willard y Twedt, 1994). Este analizador requiere 40 µL de plasma para cada prueba (Johnson *et al.*, 2009). La sensibilidad de este método es muy

alta, y varía según el equipo utilizado (Johnson *et al.*, 2009). En nuestro caso, este posee como características una alta sensibilidad (límite de detección fotométrica de 0,28 mg/dL), alta especificidad (error total de 1,34%) y alto nivel de exactitud (error medio de 1,5%) (Labtest diagnóstica, 2011), lo que permite su aprobación como método de referencia por la asociación americana de diabetes (ADA) (Labtest, 2011).

Análisis estadístico.

Para conocer si las diferencias observadas entre los niveles de glucosa sanguínea obtenidas en cada animal, mediante dos métodos diferentes y a distintos tiempos son estadísticamente significativas, se compararon las medias de las determinaciones de glucosa sanguínea (mg/dL) obtenidas en todos los animales sometidos al estudio. Debido a que se utilizó un bajo número de muestras (n) y que cada animal que participó en el estudio fue sometido a todas las condiciones experimentales y a las combinaciones de éstas de la misma manera (método y tiempo), se decidió utilizar la prueba de Friedman (análisis de varianza no paramétrico). Cabe destacar que entre las ventajas de este tipo de análisis se encuentra, una mayor sensibilidad para detectar diferencias entre los grupos de estudio y que las pruebas no son afectadas por valores extremos de los datos. Para esto, se designó al nivel de glucosa sanguínea (mg/dL) como variable dependiente, mientras que las independientes fueron los factores de variación, los que son de dos tipos:

1. Método de cuantificación de glucosa sanguínea: esta variable presentó dos niveles, que representaron el uso de un glucómetro portátil de uso humano (a) y el método *Gold Standard* (b).
2. Tiempo transcurrido durante la prueba experimental: esta variable presentó cinco niveles, que representaron los momentos de la extracción y medición de las muestras de sangre, que fueron a los 0 (1), 30 (2), 60 (3), 120 (4) y 180 (5) minutos, posteriores a la carga de glucosa oral.

Para el análisis, se plantearon las siguientes pruebas de hipótesis:

- a) H_0 : No existen diferencias significativas entre los niveles de glucosa sanguínea medidos con el glucómetro portátil y el método *Gold Standard* a través del tiempo.
- b) H_1 : Existen diferencias significativas entre los niveles de glucosa sanguínea medidos con el glucómetro portátil y el método *Gold Standard* a través del tiempo.

Los resultados obtenidos se agruparon en una tabla previamente elaborada según método y tiempo transcurrido (Anexo 2). Para cada caso, según el nivel de significancia y el valor del error ($\alpha=0,05$) permitió aceptar o no la hipótesis nula, explicando de esta manera la influencia de los factores en los niveles de glucosa sanguíneos.

Por otra parte, para determinar la relación entre la concentración de glucosa sanguínea y la condición corporal de los animales sometidos al estudio. Los perros, fue posible agruparlos en dos grupos de acuerdo a su condición corporal en 3/5 y 4/5. Así, se comparó la condición corporal de los animales con el nivel de glicemia para cada grupo, utilizando el coeficiente de correlación de *Pearson*, la que ayuda a definir si entre estas variables existe o no algún tipo de asociación.

Para esto se establecieron las siguientes pruebas de hipótesis, las que fueron aceptadas o rechazadas utilizando un nivel de significancia (α) de 0,05.

- a) H_0 : Existe independencia entre la concentración de glucosa sanguínea y el grado de condición corporal de los caninos ($r=0$)
- b) H_1 : Existe algún tipo de relación entre la concentración de glucosa sanguínea y el grado de condición corporal de los caninos ($r\neq 0$).

Ambos análisis estadísticos fueron desarrollados utilizando el *software* estadístico Infostat® versión 2008 (Ramachandrán y Tsokos, 2015).

RESULTADOS

Las características clínicas y resultados de los exámenes de laboratorio (hemograma, perfil bioquímico y urianálisis), mostraron que todos los animales fueron aptos para participar en el estudio y fueron clasificados en 2 grupos según condición corporal (3/5 y 4/5). Se trabajó con un rango de edad de 1 a 12 años de edad, con un promedio de 5,6 años. El rango de peso fue de 10 a 40 kg, con un promedio de 16,3 kg.

En todos los perros con ayuno previo de 12 horas aproximadamente, se realizó la prueba experimental de la misma manera y la dosis de miel administrada (4g/kg) fue bien tolerada por todos los animales, por lo que ninguno de ellos presentó signos clínicos de irritación faríngea ni vómitos. Por otra parte, ningún animal presentó signos clínicos de hiperglicemia durante la prueba experimental, ni siquiera el control positivo, diagnosticado previamente con Diabetes Mellitus.

En la figura 1 se muestra el gráfico del promedio de la glucosa sanguínea obtenida con ambos métodos de cuantificación, a través del tiempo en todos los animales sometidos al estudio. Se puede observar que el *peak* de glicemia se obtuvo a los 30 y 60 minutos posteriores a la administración oral de miel, cuando se cuantificó con el glucómetro portátil *AutoCode®* y con el método *Gold Standard*, respectivamente.

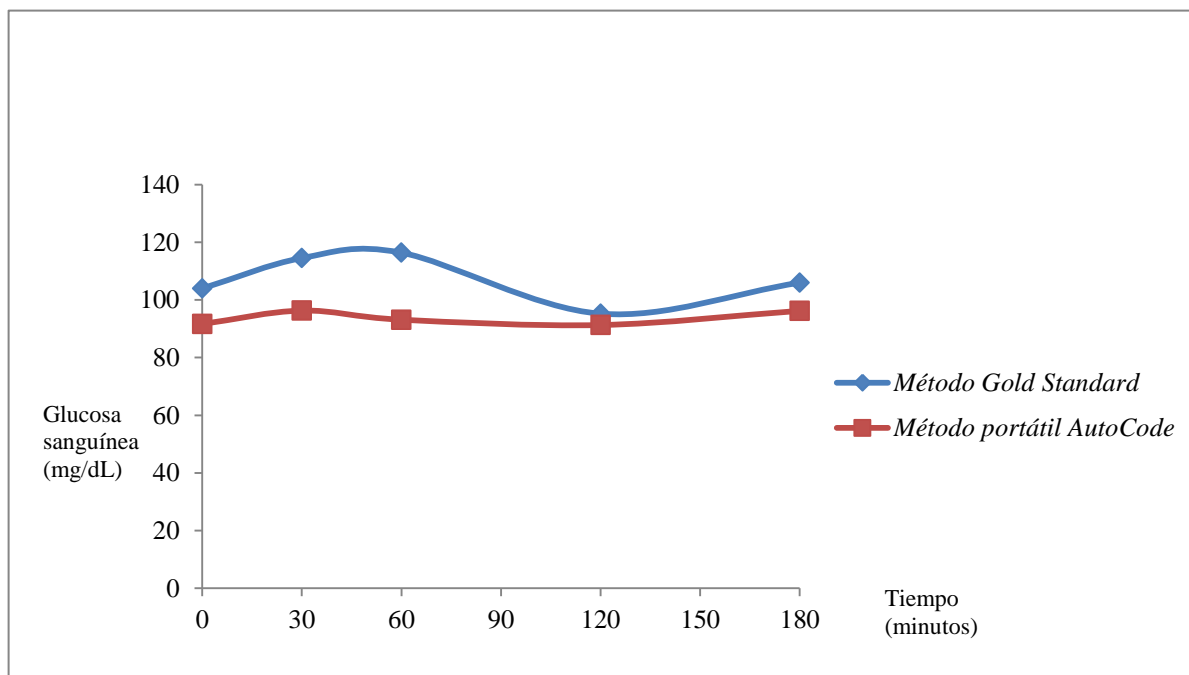


Figura 1. Curva de tolerancia de glucosa oral. Promedios de glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos.

Como control positivo del funcionamiento del glucómetro portátil en estudio, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa oral en una paciente canina con diagnóstico previo de Diabetes Mellitus, en donde se cuantificó la glucosa sanguínea a los 0, 30, 60, 120 y 180 minutos, posteriores a la administración oral de miel a una dosis de 4 g/kg de peso corporal y se comparó con los promedios obtenidos con el mismo (Figura 2) y con el método *Gold Standard* (Figura 3). De esto, se desprende que las curvas de glicemia se comportaron de igual manera a través del tiempo transcurrido durante la prueba experimental, obteniéndose el nivel máximo de glucosa sanguínea entre los 30 y 60 minutos posteriores a la administración de miel en todos los casos, con lo que se concluye el correcto funcionamiento del método portátil (*AutoCode*®) a validar.

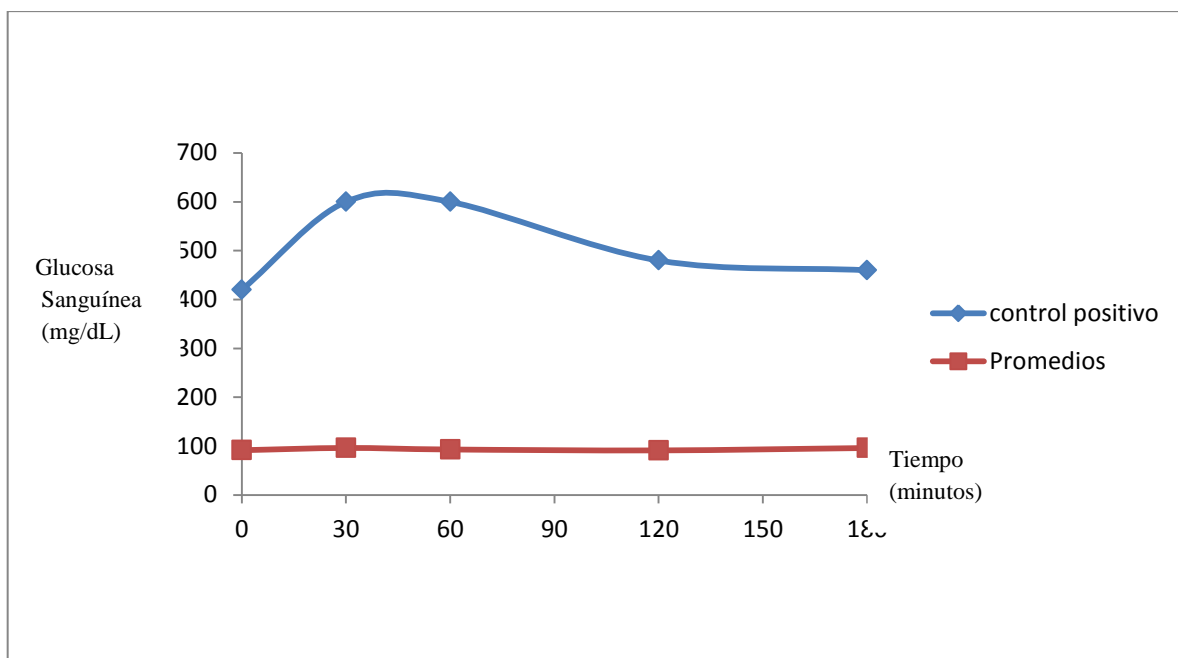


Figura 2: Curva de tolerancia de glucosa oral. Comparación de glucosa sanguínea entre control positivo y promedios de todos los animales, con método portátil.

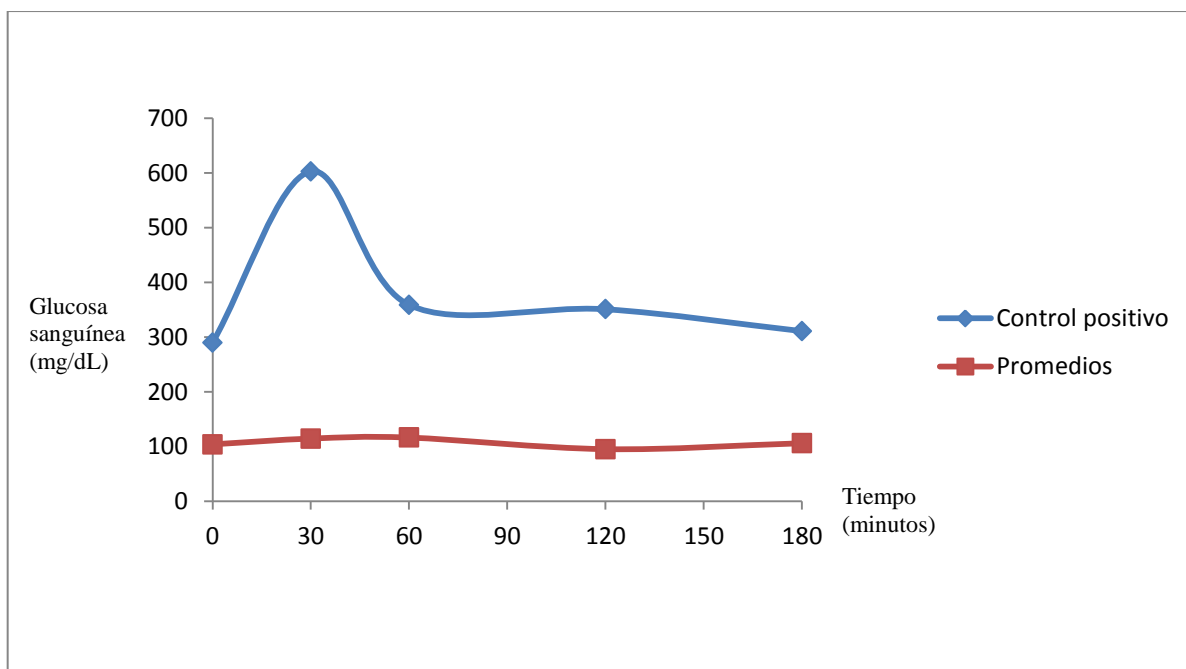


Figura 3. Curva de tolerancia a glucosa. Comparación de glucosa sanguínea entre control positivo y promedios, con método *Gold Standard*.

Con respecto al segundo objetivo planteado, se construyó una tabla con los valores promedio de la cuantificación de glucosa sanguínea, obtenida con cada uno de los dos

métodos de todos los animales sometidos al estudio en los diferentes tiempos (Anexo 2), se utilizó el *software* estadístico Infostat®. Se realizó la prueba de Friedman para los diferentes tiempos, de manera de comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los dos métodos, a través de la prueba experimental. Los rangos asociados a los valores obtenidos se presentan en el anexo 3.

Glicemia tiempo 1 (0 minutos)

La tabla 1 muestra la concentración media de glucosa sanguínea obtenida con ambos métodos en el tiempo 1, correspondiente a la glicemia basal (0 minutos), en la que se observa que los valores de glicemia fueron mayores cuando se cuantificó con el método *Gold Standard* comparados con los obtenidos con el glucómetro portátil Autocode®, existiendo una diferencia promedio de 12,34 mg/dL (11,8%), entre ambas mediciones (Figura 4). En este caso, el valor obtenido de p es menor al nivel de significancia (0,05), por lo que se considera que las diferencias encontradas son estadísticamente significativas para este período.

Tabla 1. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (0 minutos).

Método de cuantificación	Portátil AC	GS	Valor de p
Promedios (mg/dL)	91,66	104	0,0123

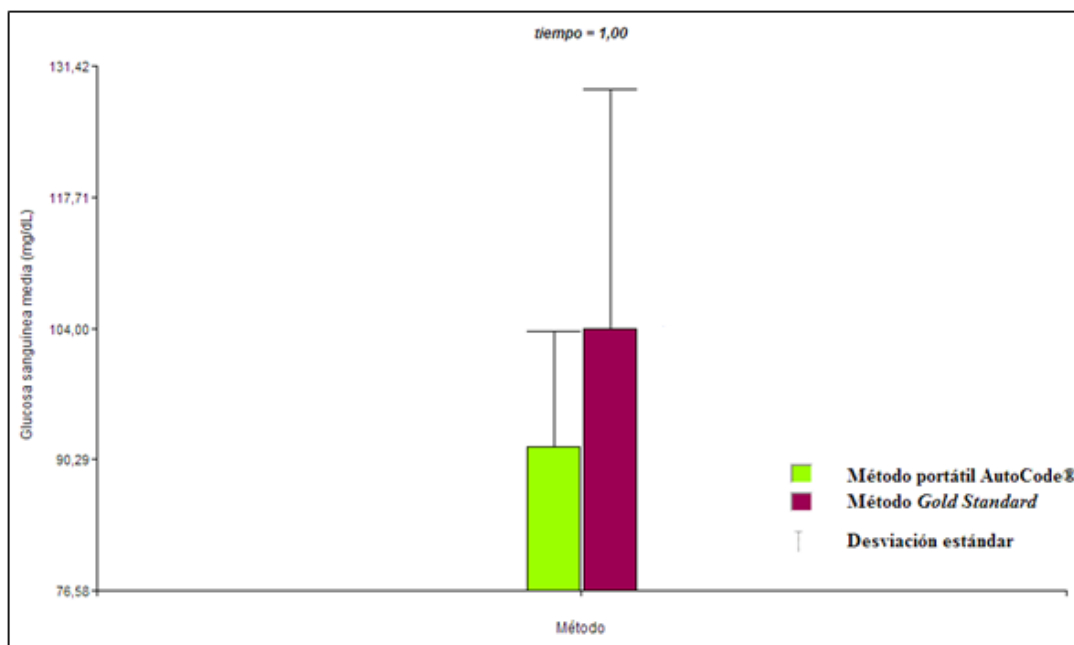


Figura 4. Comparación de la glucosa sanguínea media cuantificada con ambos métodos a los 0 minutos (glicemia basal).

Glicemia tiempo 2 (30 minutos)

La tabla 2 muestra la concentración media de glucosa sanguínea obtenida con ambos métodos en el tiempo 2, correspondiente a los 30 minutos posteriores a la administración oral de miel. Se observa nuevamente una diferencia entre los valores medios de glicemia obtenida con ambos métodos, siendo nuevamente mayor el valor del *Gold Standard* que el del glucómetro portátil (AutoCode®) (Figura 5). La diferencia entre ambos métodos es de 18,22 mg/dL (15,9%). En este caso, el valor de p obtenido fue $<0,0001$, por lo que la diferencia es también estadísticamente significativa. Además, en este caso, el valor de p es mucho menor, lo que significa una mayor seguridad estadística.

Tabla 2. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (30 minutos).

Método de cuantificación	Portátil AC	GS	Valor de p
Promedios (mg/dL)	96,3	114,52	$<0,0001$

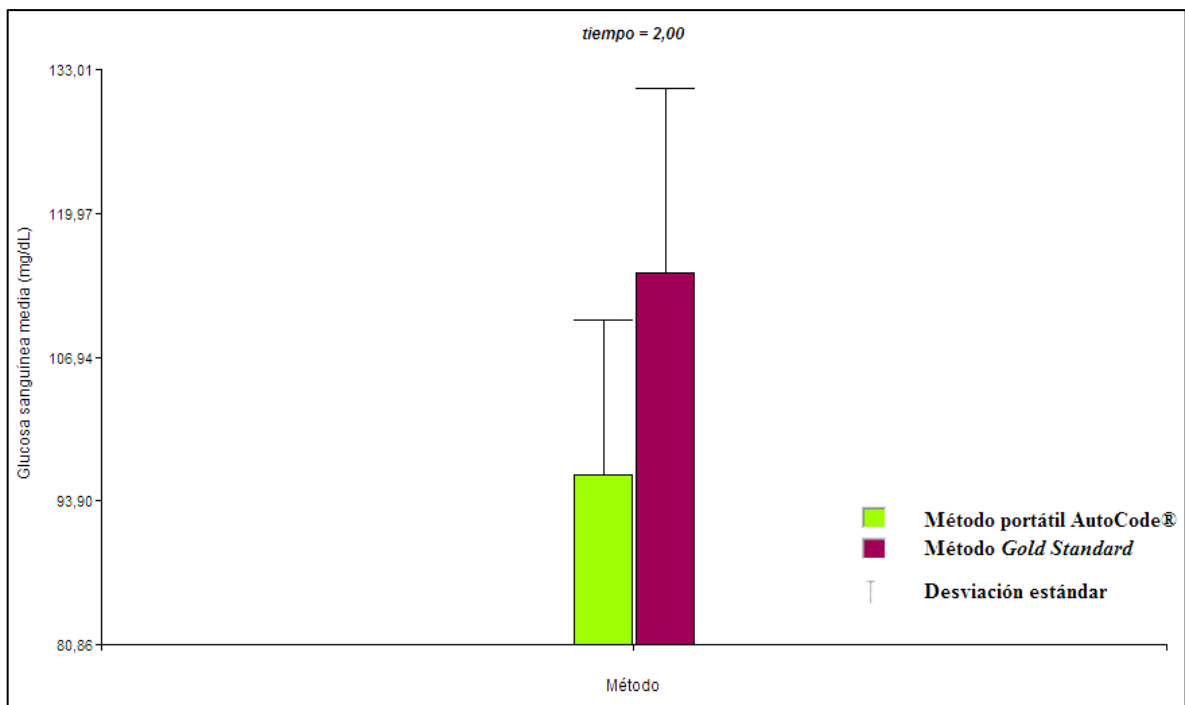


Figura 5. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 30 minutos (posteriores a la administración oral de miel).

Glicemia tiempo 3 (60 minutos)

A los 60 minutos posteriores a la administración oral de miel, se observa la misma tendencia que en los tiempos anteriores. En la tabla 3, en donde la glucosa sanguínea media obtenida con el método *Gold Standard* fue mayor que la obtenida a través del glucómetro portátil de uso humano (AutoCode®), existiendo una diferencia de 23,24 mg/dL (19,9%) (Figura 6). Al igual que el caso anterior, el valor de p obtenido (<0,0001) da una mayor seguridad de que la diferencia es estadísticamente significativa.

Tabla 3. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (60 minutos).

Método de cuantificación	Portátil AC	GS	Valor de p
Promedios (mg/dL)	93,14	116,38	<0,0001

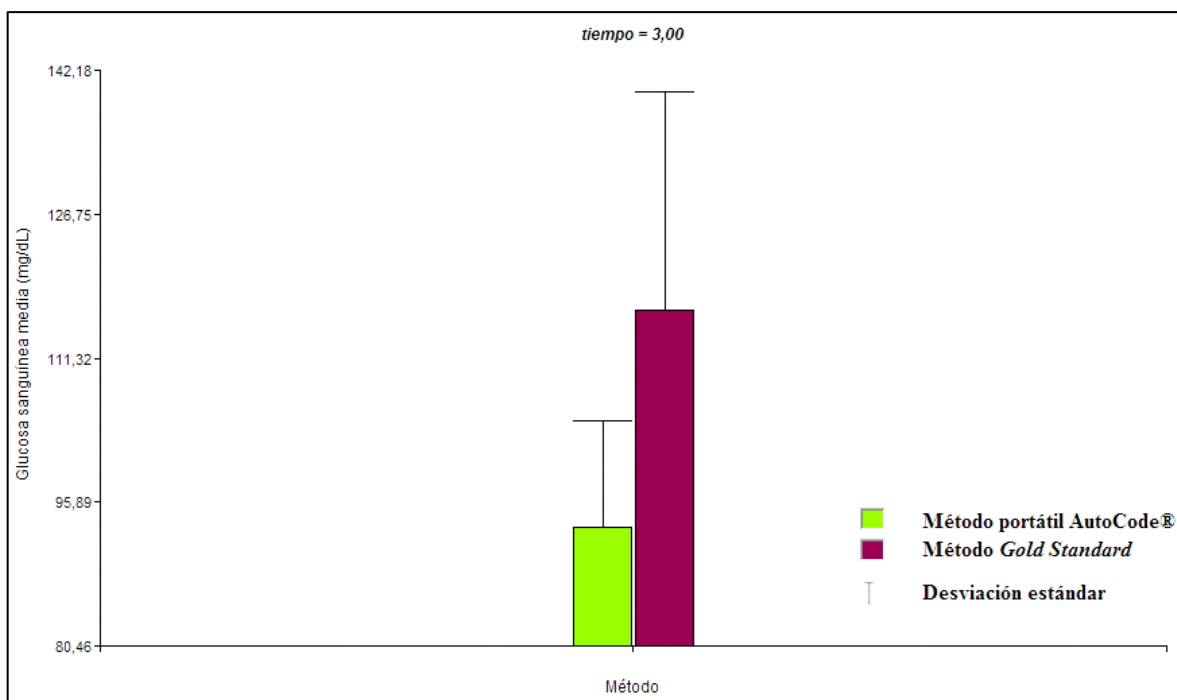


Figura 6. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 60 minutos (posteriores a la administración oral de miel).

Tiempo 4 (120 minutos)

En la tabla 4 se observan los valores medios de glucosa sanguínea obtenidos a los 120 minutos posteriores a la administración oral de miel. Se continúa con la tendencia de los tiempos anteriores, en donde la glicemia media obtenida con el *Gold Standard* es mayor que la obtenida con el glucómetro portátil (AutoCode®), existiendo una diferencia de 3,93 mg/dL (4,12%) (Figura 7). Sin embargo, en este caso el valor de p es mayor al nivel de significancia (0,05), por lo que las diferencias entre ambos métodos no son estadísticamente significativas en este período.

Tabla 4. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (120 minutos)

Método de cuantificación	Portátil AC	GS	Valor de p
Promedios (mg/dL)	91,3	95,23	0,833

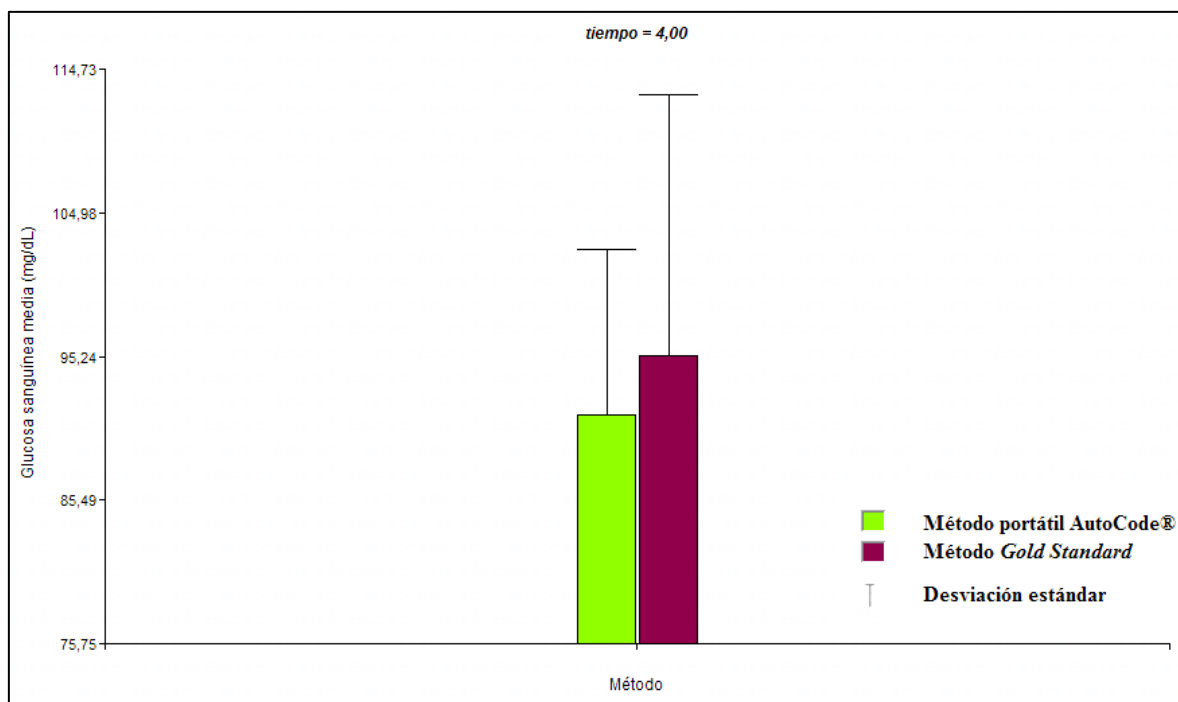


Figura 7. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 120 minutos (posteriores a la administración oral de miel).

Glicemia tiempo 5 (180 minutos)

Los valores de la glucosa sanguínea media con ambos métodos se presentan en la tabla 5. La glicemia obtenida con el método *Gold Standard* fue mayor que la obtenida con el glucómetro portátil (*AutoCode®*), existiendo una diferencia de 9,78 mg/dL (9,22%) entre ambos métodos (Figura 8). Al igual que en el caso anterior, el valor de p fue mayor al nivel de significancia (0,05), por lo que las diferencias encontradas en este período no son estadísticamente significativas.

Tabla 5. Glucosa sanguínea media, con ambos métodos de cuantificación (180 minutos).

Método de cuantificación	Portátil AC	GS	Valor de p
Promedios (mg/dL)	96,22	106	0,778

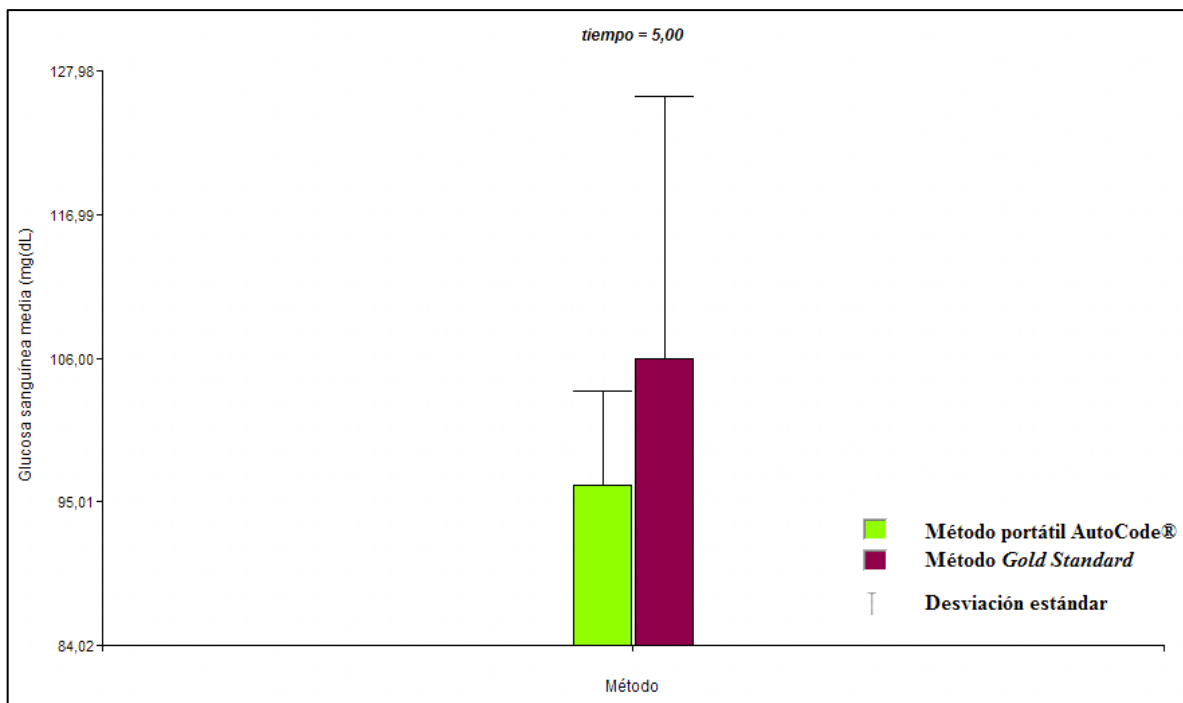


Figura 8. Comparación de la glucosa sanguínea cuantificada con ambos métodos a los 180 minutos (posteriores a la administración oral de miel).

A partir de los resultados obtenidos y su análisis mediante el programa estadístico, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. A partir de esto, podemos concluir que existen diferencias significativas entre la cuantificación de glucosa sanguínea a través de ambos métodos, en los primeros 3 tiempos de la curva de tolerancia a la glucosa realizados en la prueba experimental, correspondientes a los 0, 30 y 60 minutos, posteriores a la administración oral de miel en la especie canina.

Para conocer si existía algún tipo de relación entre la condición corporal de los animales sometidos al estudio y la glicemia obtenida en los mismos, se utilizaron los valores de glicemia obtenidos en la curva de tolerancia a la glucosa oral y se construyó una tabla con los promedios por grupo para cada tiempo, y con ambos métodos de cuantificación de todos los animales según su condición corporal (Anexo 2).

Cuando se utilizó el *software* estadístico Infostat®, se tomaron los valores de los promedios de las glicemias obtenidas con el glucómetro portátil a través del tiempo (Figura 9), se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson (r) de -0,59, lo que marca una tendencia a

la relación inversamente proporcional entre ambas variables. Sin embargo el valor de p es de 0,07, lo que es mayor que el nivel de significancia (0,05), por lo que en este caso, la relación encontrada no es estadísticamente significativa (tabla 6).

Tabla 6. Correlación de Pearson de glucosa sanguínea media con glucómetro portátil.

Correlación de Pearson (r)	Valor de p
-0,59	0,07

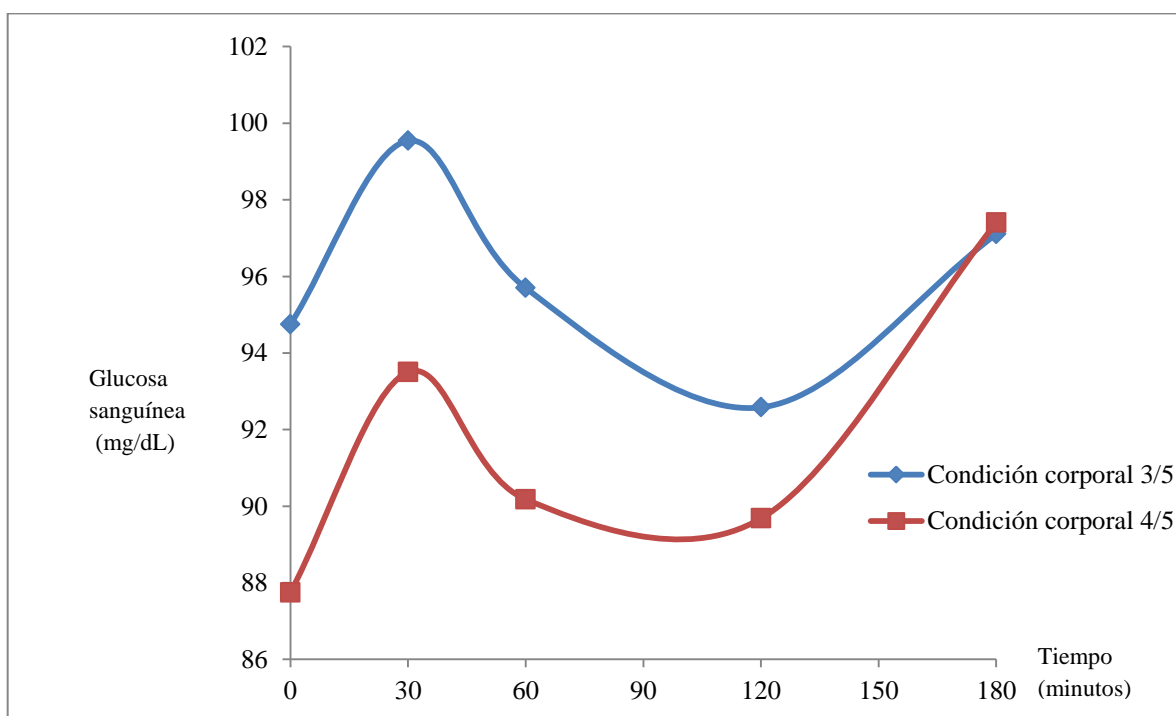


Figura 9. Glucosa sanguínea a través del tiempo medida con el glucómetro portátil *AutoCode*® según condición corporal de los animales.

Cuando se utilizaron las glicemias obtenidas a través del método *Gold Standard* (Figura 10), se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson (r) igual a -0,21, lo que nuevamente indica que existe una tendencia a una relación inversamente proporcional entre ambas variables. Sin embargo, el valor de p es de 0,55, lo que es mayor al nivel de significancia (0,05), por lo que esta relación no fue estadísticamente significativa (Tabla 7).

Tabla 7. Correlación de Pearson de glucosa sanguínea media con *Gold Standard*.

Correlación de Pearson (r)	Valor de p
-0,21	0,55

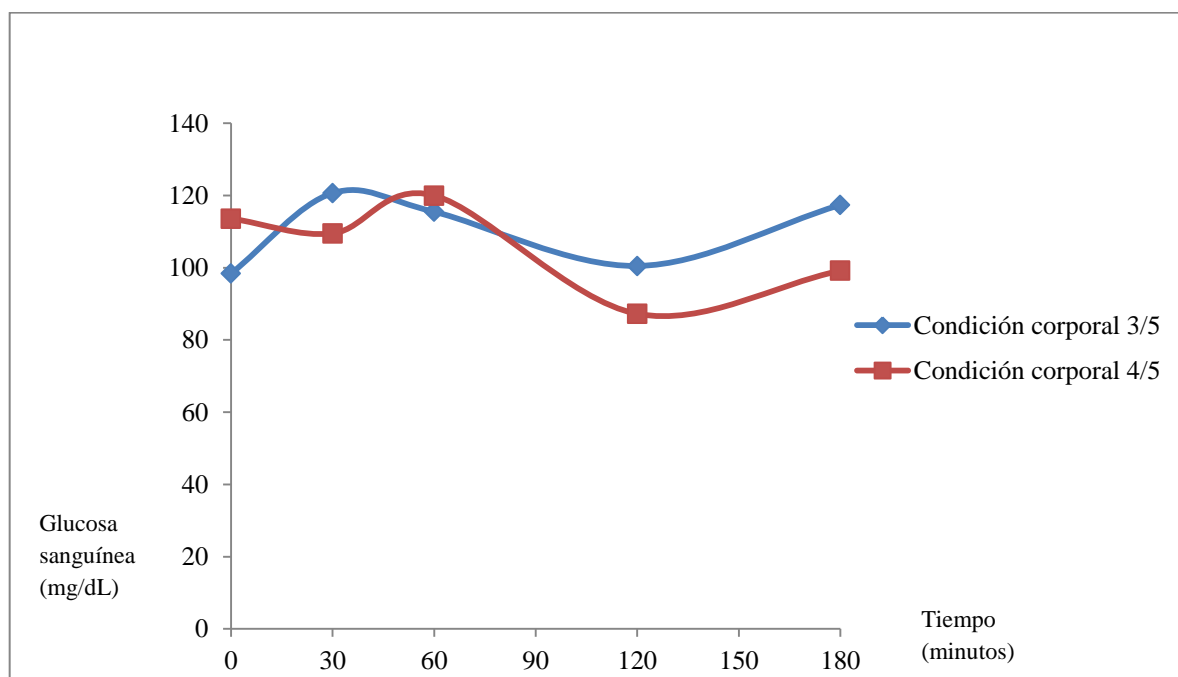


Figura 10. Glucosa sanguínea a través del tiempo medida con el método *Gold Standard* según condición corporal de los animales.

Debido a la tendencia de una relación inversamente proporcional entre las variables ya mencionada, se midió nuevamente el coeficiente de correlación de Pearson pero esta vez se realizó una partición por tiempo, para conocer si existe algún grado de asociación en algún momento de la curva de tolerancia a la glucosa, sin discriminar por método de cuantificación (Anexo 3), considerando la glicemia obtenida mediante el glucómetro portátil (*AutoCode*®). De esto se puede extraer que los valores obtenidos para el coeficiente

de correlación (r) son muy cercanos a cero, existiendo nuevamente una tendencia a una relación inversamente proporcional para ambas variables (tiempos 2, 3 y 4). Sin embargo, todos los valores de p obtenidos fueron mayores a 0,05, por lo que esta tendencia nuevamente no es estadísticamente significativa.

Se calculó nuevamente el valor del coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la glucosa sanguínea y la condición corporal de los animales, pero esta vez se consideró el tiempo y paralelamente, el método de cuantificación (portátil *AutoCode*® versus *Gold Standard*) (Anexo 3). El análisis indica que no existe una tendencia clara en cuanto al valor del coeficiente de correlación (r) obtenido en todas las combinaciones establecidas considerando método y tiempo. Además, el valor de p es mayor que 0,05, por lo que se confirma que cualquier asociación existente entre ambas variables no son estadísticamente significativas.

Por lo tanto, según el análisis de los resultados obtenidos, en este caso se debe aceptar la hipótesis nula (H_0) y rechazar la hipótesis alternativa (H_1), por lo que se puede indicar que bajo la metodología de este estudio no existe asociación entre la glucosa sanguínea y la condición corporal de los grupos estudiados (3/5 y 4/5) en la especie canina.

DISCUSIÓN.

En la prueba de tolerancia a la glucosa oral se han descrito 3 fases. La primera corresponde a la fase de absorción, donde la entrada de glucosa a la sangre excede la tasa de remoción de esta, disminuyendo su entrada al hígado, en el que además comienza la liberación de insulina. Los resultados obtenidos en este estudio se ajustan a lo descrito en la literatura para esta etapa, ya que en promedio la glucosa sanguínea fue aumentando en el tiempo hasta los 30-60 minutos posteriores a la administración oral del compuesto glucosado (en este caso miel de abeja), donde se observó la máxima glicemia (*peak*), poniendo fin a la primera fase de la curva (Kaneko, 2008). En la segunda fase se describe una disminución de la glucosa sanguínea, es decir, la tasa de remoción sanguínea excede a la de entrada a la circulación, esta etapa finaliza cuando la glucosa disminuye hasta llegar a su línea basal a los 120 minutos posteriores a la administración de miel, lo que también pudimos comprobar en este caso. En algunos pacientes se describe una tercera fase, llamada “fase de hipoglicemia”, ya que la glicemia sigue disminuyendo por debajo de su valor basal, debido a la inercia de los mecanismos compensatorios. La disminución puede llegar hasta los 180 minutos posteriores a la administración de miel. Sin embargo, en nuestros resultados, solo se observó una fase hipoglicémica en un paciente y por el contrario, la tendencia fue a la mantención de la glucosa sanguínea en el valor glicémico basal o al aumento de ésta posterior a los 120 minutos. Esto se debe a que dentro del grupo de estudio no se obtuvieron glicemias por sobre el rango esperado para el tiempo transcurrido (*peak*). Se sabe que a mayor hiperglicemia presentada en la curva de tolerancia mayor es la probabilidad de presentar una hipoglicemia secundaria por falla de los mecanismos compensatorios (Kaneko, 2008; Watanabe *et al.*, 2004).

Debido a que no hubo una fase hipoglicémica en nuestros pacientes, se decidió cuantificar la glucosa sanguínea hasta los 180 minutos, ya que al no existir una disminución significativa de esta en el tiempo mencionado podría haber significado una mala tolerancia a la glucosa oral y por ende, el desarrollo de un estado prediabético en los animales, lo que los excluiría del presente estudio. La ausencia de pacientes con signología de hipo o hiperglicemia durante el período experimental, nos confirma la buena tolerancia a la glucosa oral y la ausencia de enfermedades metabólicas (corroborado por anamnesis,

examen clínico y resultados de exámenes complementarios) que alteren la cuantificación de glucosa sanguínea.

En las pruebas de Tolerancia a la Glucosa oral descritas en la literatura, generalmente se utiliza glucosa en una solución al 50% (peso/volumen), a una dosis de 4 gramos por kilo de peso corporal y solo en uno de estos se utilizó miel de abeja a igual dosis (Irvine *et al.*, 2002). Se decidió utilizar esta última, debido a que existe una mejor tolerancia del paciente a la miel comparada con la glucosa (Abdulrhman *et al.*, 2013). Además, esta posee un menor índice glicémico (0,55), cuando se le compara con la glucosa o sucrosa, debido a la alta cantidad de fructosa contenida comparada con la de glucosa.

La acción de la fructosa ingerida se ejerce a diferentes niveles, es así que en el tracto gastrointestinal retarda el vaciamiento gástrico y enlentece la absorción intestinal. A nivel hepático se sabe que incrementa la fosforilación de la glucosa, a través de la activación de la glucoquinasa y la inhibición de la glucogenolisis por la supresión de la fosforilasa. Además aumenta la producción del glucógeno hepático, vía activación de la glucógeno sintetasa (Erejuwa *et al.*, 2012). Por otra parte, oligosacáridos como la palatinosa presentes en la miel, retardan la digestión y la absorción intestinal de la glucosa (Erejuwa *et al.* 2012), lo que resulta en una mejor utilización de esta por parte de los tejidos (Bogdanov *et al.*, 2013). Además, se ha detectado un aumento en la expresión de RNA mensajero del gen del receptor GLUT-5 después de la ingestión de fructosa y no de glucosa (Erejuwa *et al.* 2012), evaluándose de mejor manera el control glicémico en nuestros pacientes. También, en algunos estudios se comprobó que el consumo de miel en individuos diabéticos y controles no diabéticos, produjo un aumento en la concentración del péptido C, que está relacionado directamente con un aumento en la secreción de insulina por parte de las células beta pancreáticas, principalmente causado por los componentes no azucarados de ésta (Abdulrhman *et al.*, 2013). Muchos estudios han demostrado que la miel puede disminuir la insulino resistencia y aminora el daño producido en los islotes pancreáticos (Erejuwa *et al.* 2012).

En los estudios realizados a nivel mundial, se utilizan perros de raza Beagle debido a que estos son de tamaño mediano y poseen un carácter mayoritariamente dócil. Sin embargo, en esta memoria se decidió utilizar perros mestizos, debido a que son la población mayoritaria en Chile, describiéndose un 54% de perros mestizos en Santiago, en comparación con los perros de raza (Bustamante, 2008), por lo que en la práctica diaria es mucho más común que lleguen este tipo de animales a la clínica veterinaria, dándole una mayor utilidad práctica a nuestro estudio.

Con respecto a la edad, a pesar de que la Diabetes Mellitus canina es mucho más frecuente en la población adulta o longeva, se utilizaron animales de todas las edades debido a que algunos estudios señalan la existencia de Diabetes Mellitus juvenil canina (Catchpole *et al.*, 2005). Esta es una enfermedad de muy baja presentación en la especie canina, en donde existe aplasia congénita de las células beta pancreática debido a una mutación autosomal recesiva, aunque el defecto preciso aún no se ha dilucidado. Los casos descritos han ocurrido principalmente en animales a las 12 semanas de edad (Catchpole, *et al.*, 2005).

En estudios similares realizados en Europa y EEUU, se comparó la glucosa sanguínea mediante el método *Gold Standard* y glucómetros portátiles (de uso humano o veterinario), pero se utilizó un tamaño muestral más grande (n= 60-80). Sin embargo, en nuestro caso el tamaño muestral fue calculado mediante un *software* estadístico (Infostat® versión 2008), en donde se determinó que utilizando un nivel de significación $< 0,05$, en que con una diferencia mínima a detectar de aproximadamente 7 mg/dL y con 2 repeticiones por cada cuantificación, realizada con el glucómetro portátil, se alcanzaba una eficiencia estadística de un 90% al utilizar un n=20. A pesar de la marcada diferencia en el tamaño muestral, los resultados obtenidos son similares (Johnson *et al.*, 2009; Domori *et al.*, 2014), lo que respalda la eficiencia estadística alcanzada en nuestro estudio, lo que permitiría extrapolar los resultados obtenidos a la población canina actual en nuestro país.

Algunos autores prefieren realizar la prueba de tolerancia a la glucosa endovenosa, debido a que se logra una mayor exactitud en las dosis administradas, además que la administración oral de glucosa podría provocar alteraciones metabólicas en los pacientes y variaciones a

las que se está sujeto debido a las diferencias individuales entre los pacientes, como por ejemplo en la velocidad de vaciado gástrico, la tasa de absorción de los nutrientes, entre otras. Se ha descrito que a una dosis de 0,5 mg/kg de peso y un bolo de glucosa a una concentración de 25% al 50% (peso-volumen), se obtiene la máxima estimulación para la secreción de insulina por parte de las células beta pancreáticas (Díaz *et al.*, 2002). Sin embargo, el análisis de los resultados obtenidos es más complejo debido a la utilización de modelos logarítmicos (Irvine *et al.*, 2002).

En el presente estudio se decidió realizar la prueba de tolerancia a la glucosa oral, debido a que existe evidencia científica de las ventajas y beneficios que existen en esta, para evaluar un estado prediabético en un canino. Esto se debe a que se obtiene una máxima estimulación de la liberación de la insulina debido a la secreción de incretinas intestinales, las que son a su vez estimuladas por la presencia de nutrientes en el tracto gastrointestinal, mas específicamente en el intestino delgado (Kaneko, 2008).

Dentro de las incretinas más conocidas se encuentran el péptido glucagón *like* (GLP-1) y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP), el que se expresa desde el yeyuno proximal hasta el recto. La secreción de estas hormonas depende de la presencia de nutrientes en el intestino y también está relacionada con la tasa de vaciamiento gástrico, lo que no se puede imitar con el estímulo insulínico en la administración endovenosa de glucosa (Larsen y Holst, 2005). Se describe que pequeñas cantidades de alimento de absorción rápida activan la producción intestinal de GIP, mientras que la ingestión de nutrientes de mayor tamaño y más complejos activan además la secreción de GLP-1 (Larsen y Holst, 2005). Se ha descrito que en pacientes con vaciamiento gástrico acelerado, se secreta un exceso de GLP, lo que produce hiperinsulinemia exagerada e hipoglicemia, lo que no se detectó en ningún paciente de este estudio, con lo que podemos sugerir que la miel administrada no produjo mayores cambios en la velocidad de vaciamiento gástrico. Por otra parte, se ha descrito que la presencia específica de fructosa también puede estimular la secreción de GLP-1, con lo que se asegura un mayor estímulo de insulina (Larsen y Holst, 2005; Kaneko, 2008).

En cuanto a las desventajas de la administración oral de glucosa, la principal radica en que la alta concentración del bolo de glucosa administrado oralmente (30%-50%), puede alterar negativamente la motilidad del estómago debido a su alta osmolaridad (Irvine *et al.*, 2002). Esto se soluciona administrando miel, ya que se ha comprobado que esta tiene un importante papel en la regulación de la microbiota del estómago, ejerciendo un papel protector en el desarrollo de úlceras gástricas, además de todos los efectos benéficos hipoglicemiantes antes mencionados (Erejuwa *et al.*, 2012).

Al analizar los resultados obtenidos en la cuantificación de la glucosa sanguínea con el método *Gold Standard*, solo 4 perros fueron hipoglicémicos entre los 0 y 30 minutos de la prueba, estos fueron repetidos para descartar errores en el procesamiento de la muestra y cuantificación de la glucosa, sin embargo, se volvieron a obtener los mismos resultados en estos pacientes, lo que no ocurrió con el método portátil (AutoCode®). Esto se podría explicar por el uso de fluoruro de sodio como anticoagulante e inhibidor de la glucólisis sanguínea, ya que si bien es cierto tiene ventajas en la estabilización de la glucosa sanguínea por 72 horas, ésta puede demorar hasta 4 horas en comenzar a ejercer su acción. Esto se debe a que inhibe a la enolasa, enzima presente en las últimas fases de la glucólisis, lo que podría disminuir la glucosa sanguínea de la muestra en un 5% a un 7% aproximadamente (Janssen y Delanghe, 2010). Ante este escenario, se han recomendado distintos inhibidores glucolíticos, dentro de los cuales se señala como el mejor método para inhibir la glucólisis la combinación de gliceraldehído con fluoruro de sodio, debido a que se previene el consumo de glucosa completamente, incluso después de la incubación de la muestra de sangre durante 24 horas a temperatura ambiente antes de la centrifugación de la misma. Como alternativa, también se usa fluoruro de sodio combinado con manosa o con la acidificación sanguínea, estos métodos inhiben la hexoquinasa, enzima presente en la primera etapa de la vía glucolítica, con una duración del efecto de 2 a 4 horas y de 10 horas, respectivamente (Janssen y Delanghe, 2010; Bowen y Remaley, 2014). Por otra parte, se ha descrito que el fluoruro de sodio puede desestabilizar la membrana plasmática de las células promoviendo hemólisis (Bowen y Remaley, 2014). Sin embargo, el fluoruro de sodio es el agente antiglucolítico más utilizado en nuestro país en los últimos años y no se han reportado errores en la cuantificación de glucosa en pacientes caninos. Esto se podría

descartar o confirmar repitiendo la extracción de sangre y colocándola en un tubo con citrato de potasio, actividad que no fue posible de realizar en nuestro estudio.

Las concentraciones de glucosa sanguínea obtenidas con glucómetros de uso humano en otros países se encuentran entre 41 y 440 mg/dL (Johnson *et al.*, 2009), rango menor al descrito para el glucómetro utilizado en este estudio (20-600 mg/dL).

De cualquier forma, las diferencias en los resultados obtenidos en nuestro estudio con ambos métodos, coincide con lo descrito en diversas investigaciones, que concluyen que la glucosa sanguínea obtenida con el glucómetro portátil de uso humano es menor a la obtenida con el método *Gold Standard*, a pesar de las diferentes reacciones químicas que utilizan para cuantificar la glucosa sanguínea (glucosa deshidrogenasa u glucosa oxidasa). En general los análisis estadísticos de asociación entre ambos métodos han demostrado que la diferencia media está entre -15,8 (Johnson *et al.*, 2009) a -21,2 mg/dL con respecto al método *Gold Standard*, al utilizar un equipo de glucosa oxidasa (Domori *et al.*, 2014). Sin embargo, en un estudio, se describe una glicemia mayor a la obtenida con el método de referencia, y esta fue de +1,4 mg/dL, cuando se utilizó un glucómetro con las mismas características que el de nuestro estudio (Domori *et al.*, 2014). A pesar de las diferencias entre ambos métodos, los coeficientes de correlación son altos entre ellos ($r > 0,98$; $P < 0,001$) en muestras provenientes de caninos y de felinos (Domori *et al.*, 2014). Por otra parte, se ha establecido que el análisis de error, considerando un gráfico con los resultados obtenidos con el método *Gold Standard* (eje X) comparado con los obtenidos con los glucómetros portátiles de uso humano (eje Y), estos se ubican en las zonas A y B, que corresponden a “nulo efecto en la clínica” y a “acción clínica alterada con efecto mínimo en el resultado clínico”, lo que significa que las posibilidades de tomar una decisión errónea en base a los glucómetros portátiles, no altera o muy poco, el estado clínico de la mascota en la clínica veterinaria (Domori *et al.*, 2014).

La literatura apoya la teoría de la tendencia proporcional marcada, determinada mediante una regresión lineal (*Passing-Bablok*), que explica que en este estudio se haya obtenido la máxima diferencia entre ambos métodos en el tiempo 3 (19,9 %), que corresponde al

momento de la mayor concentración de glucosa sanguínea (*peak*), lo que podría corroborarse al realizar una correlación lineal.

Las diferencias obtenidas podrían explicarse por el error aleatorio, definido como la imprecisión calculada como el coeficiente de variación (CV), asociado a las variaciones operativas, del glucómetro como tal o fallas en las tiras reactivas utilizadas. En nuestro estudio no se calcularon los límites de aceptación basado en estos parámetros descritos, sin embargo, en los datos recopilados de otros estudio, la imprecisión no tendría un rol fundamental en la explicación de las diferencias obtenidas (Johnson *et al.*, 2009; Domori *et al.*, 2014).

Por otra parte, se sabe que la concentración de glucosa varía según el lugar de obtención de la muestra de sangre. Se ha demostrado que la concentración de glucosa en la sangre entera capilar es mayor que la obtenida de la sangre entera venosa, con un coeficiente de variación +9,6% (Kuwa *et al.*, 2001), lo que corresponde a un 20-25% (Johnson *et al.*, 2009), esta diferencia se debe a la tasa de consumo de la glucosa en los tejidos. Además, de la diferencia entre la glucosa obtenida de plasma venoso con la del plasma capilar, con una desviación estándar de 1 mmol/L, siendo mayor en la última (Kuwa *et al.*, 2001). Sin embargo, también se ha descrito que no existen tales diferencias en la glucosa basal (tiempo 0). Esto se debe a una tendencia proporcional en las diferencias, es decir, a mayor concentración de glucosa sanguínea, mayores diferencias en su cuantificación (Kuwa *et al.*, 2001). Es así que, la mayor diferencia se encuentra en los 60 minutos posteriores a la administración de glucosa, que es el momento de máxima concentración de esta (*peak*), lo que concuerda con lo obtenido en este estudio (Kuwa *et al.*, 2001).

Los glucómetros portátiles como el de nuestro estudio son de uso humano, por lo que poseen un rango específico de hematocrito, que al ser utilizados en la especie canina están expuestos a rangos variables de hematocrito, el que varía según la raza, edad, estado general del paciente y presencia de enfermedades concomitantes (Stein y Greco, 2002). Es así, que la cuantificación de la glicemia puede ser significativamente mayor en pacientes anémicos, mientras que puede disminuir en hemoconcentración, como es el caso de una

policitemia relativa en deshidratación severa o policitemia absoluta, estos son artefactos que pueden hacer variar la glicemia. El efecto del hematocrito se debe al cambio en la velocidad de difusión plasmática en la tira reactiva, que detectará una cuenta errónea de eritrocitos, que puede generar variaciones (Stein y Greco, 2002).

No se detectaron grandes cambios en el hematocrito dentro de nuestro grupo de animales, así como tampoco en los exámenes complementarios que pudieran hacer pensar en alguna enfermedad concomitante, sin embargo no se puede descartar que la diferencia del hematocrito entre la especie humana y canina, influya en la cuantificación de la glucosa sanguínea realizada en nuestro estudio.

Actualmente, según conversaciones abiertas con personal público del área de la salud, el glucómetro portátil utilizado en este trabajo se recomienda para pacientes humanos en nuestro país, debido a la mayor disponibilidad y menor costo de las tiras reactivas en comparación con las de otro tipo de glucómetro. Además, se usa en centros de atención primaria como consultorios y hospitales públicos. Por otra parte, es utilizado frecuentemente para medir glucosa sanguínea humana como control de la Diabetes Mellitus.

Dentro de los resultados obtenidos, con el método *Gold Standard* en ayuno se detectó una muestra hiperglicémica (145 mg/dL), la que se podría explicar por estrés de la toma de muestra debido al aumento de la liberación de epinefrina (Graves, 2005), sin embargo, esta reacción es mucho más común en felinos y tampoco se repitió con el glucómetro portátil, además no hubieron cambios en el leucograma del paciente, por lo que es mas probable que se trate de un error aleatorio pre-analítico y sin importancia clínica que debe ser corroborado.

Dentro de los glucómetros de uso humano utilizados para cuantificar la glicemia canina en la actualidad el más utilizado en nuestro país es el *Accu-check®*, debido a su mayor disponibilidad en el mercado. Sin embargo, su costo es mayor y por lo tanto es utilizado en pocas clínicas veterinarias de pequeños animales. Además, en un estudio donde se

compararon los resultados glicémicos obtenidos en la especie canina a través de varios glucómetros portátiles de uso humano, los mejores evaluados fueron *Onetouch*® y *AphaTrak*®, que a pesar de no tener un porcentaje tan alto de resultados compatibles con el método *Gold Standard* (85% y 55% respectivamente), fueron los que mostraron menos muestras glicémicamente mal clasificadas (Cohen *et al.*, 2009). En este sentido, cabe destacar que de 142 muestras de sangre, el 16,2% fue mal clasificada con el glucómetro *Accu-Check*®, un 4,2% con el *OneTouch*® y 2,1% con *AlphaTrack*®. Por otra parte, de 98 muestras de sangre clasificadas como hiperglicémicas, 15 fueron detectadas como euglicémicas con el *Accu-check*®, 1 con *OneTouch*® y 2 con *AlphaTrak*® (Cohen *et al.*, 2009), todos disponibles en nuestro país, por lo que al utilizar el primero nombrado existe el riesgo de subestimar la glucosa sanguínea obtenida, lo que puede ser fatal en el estado clínico de un paciente.

En algunos países se ha comenzado a utilizar glucómetros de uso veterinario, específicamente para la especie canina, con los que se describe que la glucosa sanguínea obtenida es mayor a la obtenida con el método *Gold Standard*, existiendo una diferencia de +2,4 mg/dL según análisis de asociación entre ambos métodos. El coeficiente de correlación (r) entre ambos es de 0,93, y al igual que con el uso del glucómetro humano, los resultados obtenidos se ubican en las zonas A y B del análisis de error, por lo que se podría recomendar su utilización (Johnson *et al.*, 2009).

En nuestro país se han comenzado a utilizar glucómetros de uso veterinario, entre ellos el glucómetro *Gpet*®, que tiene la ventaja de utilizar distintos chips para la cuantificación de glucosa sanguínea en varias especies (caninos, felinos y equinos), sin embargo, su disponibilidad es limitada y las tiras reactivas son de mayor precio, por lo que se dificulta su uso en la práctica médico veterinaria. Por otro lado, no existen estudios en Chile que validen los resultados obtenidos hasta ahora.

En nuestros pacientes no se observó un cambio lipídico, lo que se asocia a insulino resistencia. Se sabe que en este estado existe una alteración en las lipoproteínas, tanto en cantidad como en composición. Así, disminuye considerablemente la concentración de

HDL y aumenta la producción de VLDL, asociado esto último a un aumento en el flujo hepático de los ácidos grasos no esterificados debido a una lipólisis excesiva, además del aumento de los triglicéridos (Bailhache *et al.*, 2003).

En cuanto a los resultados de nuestro estudio respecto al tercer objetivo planteado, el coeficiente de correlación (r) fue muy cercano a cero en todos los casos, lo que se interpreta como una nula asociación entre la condición corporal de los animales y la glucosa sanguínea a través del tiempo. Además el valor de p fue mayor a 0,05 en todos los casos, por lo que tampoco es estadísticamente significativa. Cabe destacar que estos resultados se repitieron al utilizar la glicemia obtenida mediante ambos métodos, al clasificar solo por tiempo transcurrido en la prueba experimental y combinando ambos métodos de cuantificación y el tiempo, en donde no existe una tendencia clara de asociación entre las variables y ninguna de estas es estadísticamente significativa. Sin embargo, al utilizar los valores obtenidos con el glucómetro *AutoCode*® (Tabla 6), se obtuvo un valor de p de 0,07, lo que es mucho más cercano a 0,05 y que fue lo que nos impulsó a realizar diferentes combinaciones entre las variables ya mencionadas. En esta se puede observar un valor de $r = -0,59$, lo que marca una leve tendencia negativa entre la condición corporal y la glucosa sanguínea, lo que indica que la relación entre ambas variables es inversamente proporcional. Esto apoyaría la teoría de que los perros obesos pueden compensar la insulino resistencia y mantener una glucosa sanguínea dentro del rango normal para la especie.

A pesar de que está demostrada la insulino resistencia y falla en el control glicémico inducidos por la obesidad en caninos, se sabe que los perros obesos no pierden la primera fase de secreción de insulina, lo que ha generado que algunos autores defiendan la idea de la compensación de la insulino resistencia a través de varios factores, evitando de esta forma la progresión al desarrollo de Diabetes Mellitus. Así los perros obesos muestran cambios en glucosa e insulina que se correlacionan con el grado de obesidad. De esta forma, los perros con un grado de obesidad menor a un 40% tienen concentraciones de glucosa e insulina similar a los con condición corporal normal. Aquellos que presentan un grado de obesidad entre 40-70% presentan hiperinsulinemia evidente, pero no presentan intolerancia a la glucosa y esta condición sólo se manifiesta cuando existe un grado de

obesidad mayor al 70%, por lo que a pesar de la insulino resistencia son capaces de aumentar su secreción, lo que protege a esta especie de la progresión a la Diabetes Mellitus tipo 2 (Hoenig, 2014).

Por otra parte, la condición de obesidad, aumenta la concentración plasmática de leptina, que incrementa el gasto energético y modula el metabolismo de los carbohidratos y las grasas a través de sistemas centrales y periféricos, además de a largo plazo controlar el peso corporal, con lo que se disminuiría la falla en la acción de la insulina sobre los tejidos, excepto si existen fallas en los receptores o en las señales en los tejidos blanco, lo que induciría una leptino-resistencia, condición que se asocia a un desbalance entre su forma libre y ligada a proteínas en pacientes obesos (Kil y Swanson, 2010).

Se sabe que existen receptores de leptina en el músculo esquelético y en las células beta pancreáticas, por lo que es muy probable que el aumento en la concentración de leptina inducida por la obesidad (y no por la glucosa sanguínea), sea un estímulo para la liberación de insulina compensatoria a la insulino resistencia, lo que se evidencia con un aumento en la función de las células beta cuando aumenta el grado de obesidad (Verkest *et al.*, 2011).

Se describe que la leptina promueve la proliferación de las células beta pancreáticas y al mismo tiempo es un inhibidor de la secreción de insulina. Su función en este caso depende de las circunstancias metabólicas del animal. Así, en caninos no obesos o con bajo peso, la leptina disminuye la secreción de insulina, sin embargo, en caninos obesos, es capaz de aumentar la secreción de insulina e inhibe la apoptosis de las células beta pancreáticas inducida por ácidos grasos (Verkest *et al.*, 2011).

Diversos estudios indican que, contrario a lo que ocurre en humanos, un aumento de la glucosa sanguínea y de los ácidos grasos libres inducidos por la obesidad, aumenta la concentración y acción del péptido glucagón like 1 (GLP-1) en caninos obesos, favoreciendo la acción de la insulina (Kil y Swanson, 2010). Esto se demostró midiendo su concentración en perros obesos de distinto grado. Sin embargo, los cambios asociados a esta hormona se estiman solo en un 5% (Verkest *et al.*, 2011). Además, la obesidad en los

caninos induce una disminución de mediadores de la acción de la hormona del crecimiento, lo que está positivamente relacionado con la sensibilidad a la insulina (Kil y Swanson, 2010).

Algunos autores plantean que en un estado de insulino resistencia, la insulina es incapaz de inhibir la lipólisis, esto induce a que los ácidos grasos estén más disponibles, produciendo un aumento en la concentración de insulina compensatoria para vencer la insulino-resistencia, lo que sugiere que los ácidos grasos libres aumentan la respuesta de las células beta pancreáticas. Sin embargo, su exposición crónica a los ácidos grasos, las expone a apoptosis por lipotoxicidad (Van Citters *et al.*, 2002).

Una limitación en nuestro estudio, fue que solo pudimos analizar animales con condición corporal 3 y 4 (de la escala de 1 a 5), debido a que estos son los animales que comúnmente llegan a las clínicas médico veterinarias de nuestro país. Por otra parte, los animales con condición corporal extrema (1 y 5), frecuentemente presentan enfermedades metabólicas concomitantes que interfieren con la cuantificación de la glucosa sanguínea, lo que hubiera interferido en los objetivos planteados en este estudio. Sin embargo, debido a que el valor de p obtenido es tan cercano al nivel de significación, nos queda la interrogante de si podría existir algún tipo de asociación significativa en ambas variables, si se analizaran animales de condición corporal extrema. Aunque para esto, se deberían preparar a los animales con dietas especiales manejadas en el laboratorio, para así conseguir la condición corporal deseada sin que se presente alguna enfermedad asociada, lo que es difícil de conseguir en términos éticos, ya que predispone a riesgos en su estado de salud.

De acuerdo a los resultados obtenidos y a la discusión planteada sobre el tema, en este estudio es posible concluir lo siguiente:

CONCLUSIÓN

La Diabetes Mellitus es una enfermedad común en los pacientes caninos, sin embargo en el país ha sido sub diagnosticada en los últimos años.

El uso de un glucómetro portátil constituye una herramienta muy útil en la clínica de pequeños animales debido a que es una forma rápida y poco invasiva de obtener información sobre el estado actual del paciente, lo que permite tomar decisiones en cuanto al diagnóstico, tratamiento y pronóstico de un paciente.

Existen diferencias estadísticamente significativas entre el glucómetro portátil *Prodigy AutoCode*® y el método *Gold Standard*, que están entre -4,12% y -19,9%, siendo mayor a los 60 minutos posteriores a la administración oral de miel y menor a los 120 minutos, lo que corresponde a una tendencia proporcional, significando que estas son mayores si mayor es la concentración de glucosa sanguínea

No se encontró asociación significativa entre la condición corporal de los animales y la concentración de glucosa sanguínea, sin embargo, existe una tendencia a la relación inversamente proporcional entre ambas variables que podría ser significativa al analizar glicemias de animales con condición corporal extrema.

Se recomienda el uso del glucómetro *Prodigy AutoCode*® utilizado en este estudio debido a sus diferencias predecibles con respecto al método *Gold Standard*, la baja invasividad, bajo costo, alta disponibilidad en el mercado y la familiaridad con su uso en las personas.

BIBLIOGRAFÍA

ANÓN. 2005. Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. *Vet. Clin. Small Anim.* 35:713-742.

ABDULRHMAN, M.; EL HEFNAWY, M.; ALI, R.; ABDEL, I.; ABOU, A.; REFAI, D. 2013. Effects of honey, sucrose and glucose on blood glucose and C peptide in patients with type 1 diabetes mellitus. *Complement. Ther. Clin. Pract.* 19:15-19.

BAILHACHE, E.; NGUYEN, P.; KREMPE, M.; SILIART, B.; MAGOT, T.; OUGUERRAM, K. 2003. Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistance dogs. *Metabolism* 52 (5):559-564.

BALDWIN, K.; BARTGES, J.; BUFFINGTON, T.; FREEMAN, L.; GRABOW, M.; LEGRED, J.; OSTWALD, D. 2010. Guías para la evaluación nutricional de perros y gatos de la Asociación Americana Hospitalaria de Animales (AAHA). *J. Am. Anim. Hosp. Assos.* 46 (4):285-297.

BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R.; GALLMANN, P. 2013. Honey for nutrition and health: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 27 (6): 31-38.

BOWEN, R.; REMALEY, A. 2014. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem. Med.* 24 (1):31-44

BROWN, J.; OTTE, S. 1979. GIP and the Entero-Insular axis. **In:** Watkins, P. *Clinics in Endocrinology and metabolism.* Elsevier. California, USA. pp. 221-245

BUSTAMANTE, S. 2008. Demografía en las poblaciones de perros y gatos en la comuna de Santiago. Memoria título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 90pp.

CASE, L.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M.; FOESS, M. 2011. Diabetes mellitus. **In:** *Canine y feline nutrition.* 3° Ed. Saunders. Missouri, EEUU. pp. 75-98

CATCHPOLE, B.; RISTIC, J.; FLEEMAN, L.; DAVISON, L. 2005. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? *Diabetologia.* 48:1948-1956.

COHEN, T.; NELSON, R.; KASS, P.; CHRISTOPHER, M.; FELDMAN, E. 2009. Evaluation of six portable blood glucose concentration in dog. *JAVMA*. 235 (3):276-280.

COOK, A. 2012. Monitoring methods for dogs and cats with diabetes mellitus. *J. Diabetes Sci. Technol.* 6 (3):491-495.

DAVISON, L. J.; HERRTAGE, M. E.; CATCHPOLE, B. 2005. Study of 253 dogs in the United Kingdom with diabetes mellitus. *Vet. Rec.* 156:467-471.

DÍAZ, C.; RÍOS, C.; CROSSLEY, J. 2002. Diabetes mellitus en perros: técnicas de diagnóstico. *Monogr. Med. Vet.* 22 (1-2):31-39.

DOMORI, A.; SUNAHARA, A.; TATENO, M.; SHIMOKAWA, T.; SETOGUCHI, A.; ENDO, Y. 2014. The clinical utility of two human portable blood glucose meters in canine y feline practice. *Vet. Clin. Pathol.* 43 (2):55-62.

EREJUWA, O.; SULAIMAN, S.; ABWAHAB, M. 2012. Honey- a novel antidiabetic agent. *Int. J. Biol. Sci.* 8 (6):913-934.

FELDMAN, E.; NELSON, R. 2004. Canine diabetes mellitus. **In:** Canine and feline endocrinology and reproduction. 3° Ed. Saunders. Missouri, USA. pp. 321-336.

GRAVES, T. 2005. Lots new in managing the diabetic dog. **In:** Proceeding of the NAVC. Orlando, EEUU. 8-12 January 2005. North American Veterinary Conference. pp. 321-322.

GRECO, D. 2012. Diabetes mellitus in animals: diagnosis and treatment of diabetes mellitus in dogs and cats. **In:** Nutritional and therapeutic interventions for diabetes and metabolic syndrome. Ed: Hardbound. St. Louis, USA. 544pp.

HEWSON-HUGHES, A. K.; GILHAM, M. S.; UPTON, S.; COLYER, A.; BUTTERWICK, R.; MILLER, A. T. 2011. Postprandial glucose and insulin profiles following a glucose-loaded meal in cats and dogs. *Br. J. Nutr.* 106:101-104.

HOENIG, M. 2014. Carbohydrate metabolism and pathogenesis of Diabetes Mellitus in dogs and cats. **In:** Tao, Y. *Progress in molecular biology and translational science.* Elsevier. San Diego, USA. pp. 377-412.

IBARRA, L.; MORALES, M. A.; ACUÑA, P. 2003. Aspectos demográficos de la población de perros y gatos en la ciudad de Santiago, Chile. *Av. Cs. Vet.* 18 (1-2):13-20.

IRVINE, A.; BUTTERWICK, R.; WATSON, T.; MILLWARD, D.; MORGAN, L. 2002. Determination of insulin sensitivity in the dog: an assessment of three methods. *J. Nutr.* 132:1706- 1708.

JANSSEN, K.; DELANGHE, J. 2010. Importance of the pre-analytical phase in blood glucose analysis. *Acta Clin. Belg.* 65 (5):311-318.

JOHNSON, B.; FRY, M.; FLATLAND, B.; KIRK, C. 2009. Comparison of a human portable blood glucose meter, veterinary portable blood glucose meter, and automated chemistry analyser for measurement of blood glucose concentrations in dogs. *JAVMA.* 235 (11):1309-1313.

KANEKO, J. 2008. Carbohidrate metabolism and its diseases. **In:** *Clinical biochemistry of domestic animals.* 2^a Ed. Elsevier. California, USA. pp. 45-80.

KIL, D.; SWANSON, K. 2010. Endocrinology of obesity. *Vet. Clin. Small Anim.* 40: 205-219.

KUWA, K.; NAKAYAMA, T.; HOSHINO, T.; TOMINAGA, M. 2001. Relationships of glucose concentrations in capillary whole blood, venous whole blood and venous plasma. *Clin. Chim. Acta.* 307:187-192.

LABTEST DIAGNÓSTICA S.A. 2011. Glucosa Liquiform. Instrucciones de uso. [En línea] Sao Paulo, Brasil. <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Ref_133_RevDezembro2011_Ref240214_Esp.pdf> [16-05-2017]

LARSEN, J. A.; FARCAS, A. 2014. Nutrition of aging dogs. *Vet. Clin. Small Anim.* 44 (4):741-759.

LARSEN, P.; HOLST, J. 2005. Glucagon-related peptide 1 (GLP-1): Hormone and neurotransmitter. *Regul. Pept.* 128:97-107.

LOSTE, A.; MARCA, C. 2001. Fructosamine and glycated haemoglobin in the assessment of glycaemic control in dogs. *Vet. Res.* 32:55-62.

MICELI, D.; CABRERA, M.; GALLELLI, M.; PIGNATARO, O.; CASTILLO, V. 2014. Involvement of glucagon-like peptide 1 in the glucose homeostasis regulation in obese and pituitary-dependent hyperadrenocorticism affected dogs. *Res. Vet. Sci.* 97:211-217.

NELSON, R. W. 2011. Endocrine, metabolic, and lipid disorders. **In:** Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. Ed: Katz, V. L.; Lentz, G.; Lobo, R. A.; Gershenson, D. 5^a Ed. Saunders. St. Louis, USA. pp. 156-190.

NELSON, R.; COUTO, C. 2010. Enfermedades del páncreas endocrino. **In:** Medicina interna de pequeños animales. 4^a Ed. Elsevier. Barcelona, España. pp. 83-94

PICCIONE, G.; CASELLA, S.; PANZERA, M.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F. 2012. Effect of moderate treadmill exercise on some physiological parameters in untrained beagle dogs. *Exp. Anim.* 61 (5):511-515.

RAMACHANDRAN, K.; TSOKOS, C. 2015. Nonparametric tests. **In:** *Mathematical statistic with applications in R.* 2^a Ed. San Diego, USA. pp. 589-637

SANDHU, H.; WIESENTHAL, S.; MCDONALD, P.; MCALL, R.; TCHISPASHVILI, V.; RASHID, S.; SATKUNARAJAH, M.; IRWIN, D.; QING SHI, Z.; BRUBAKER, P.; WHEELER, M.; EFENDIC, S.; GIACCA, A. 1999. Glucagon-like peptide1 increases insulin sensitivity in depancreatized dogs. *Diabetes.* 48 (5):1045-1053.

STEIN, J.; GRECO, D. 2002. Portable blood glucose meters as a means of monitoring blood glucose concentrations in dogs and cats with Diabetes Mellitus. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 17 (2):70-72.

TURNWALD, G.; WILLARD, M. 1994. Endocrine, metabolic and lipid disorders. **In:** Willard, M.; Tvedten, H.; Turnwald, G. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods.* 2da Ed. Saunders. Pennsylvania, EEUU. pp. 147-178.

TVEDTEN, H. 1994. The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selected techniques. **In:** Willard, M.; Tvedten, H.; Turnwald, G. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods.* 2^a Ed. Saunders. Pennsylvania, USA. pp. 11-30.

VAN CITTERS, G.; KABIR, M.; KIM, S.; MITTELMAN, S.; DEA, M.; BRUBAKER, P.; BERGMAN, R. 2002. Elevated glucagon-like peptide-1- (7-36)-amide, but not glucose, associated with hyperinsulinemic compensation for fat feeding. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87 (11):5191- 5198.

VERKEST, K.; FLEEMAN, L.; MORTON, J.; ISHIOKA, K.; RAND, J. 2011. Compensation for obesity- induced insulin resistance in dogs: assessment of the effects of leptin, adiponectin, and glucagon- like peptide-1 using path analysis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 41:24-34.

VERKEST, K. R.; RAND, J. S.; FLEEMAN, L. M.; MORTON, J. M. 2012. Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 42:103-112.

WAKSHLAG, J.; SHMALBERG, J. 2014. Nutrition for working and service dogs. *Vet. Clin. Small Anim.* 44:719-740.

WATANABE, D.; NAKARA, H.; AKAGI, K.; ISHII, T.; MIZUGUCHI, H.; NAGASHIMA, Y.; OKANIWA, A. 2004. Oral glucose tolerance test and determination of serum fructosamine level in beagle dogs. *J. Toxicol. Sci.* 29 (1):33-36.

WILLARD, M.; TWEDT, D. 1994. Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. **In:** *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods.* 2^a Ed. Saunders. Pennsylvania, USA. pp. 179-218.

YOO, E.; LEE, S. 2010. Glucose biosensors: an overview of use in clinical practice. *Sens. J.* 10(5):4558-4576.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha clínica

I. Identificación del paciente

Nombre:

Edad:

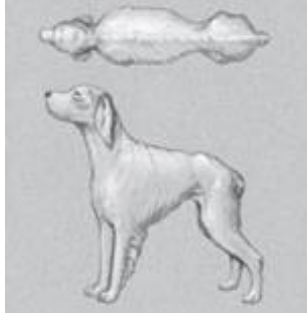
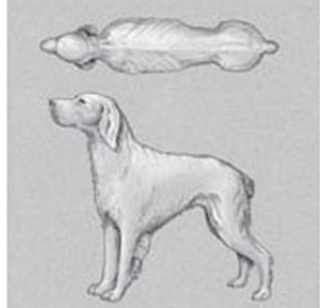
Raza:


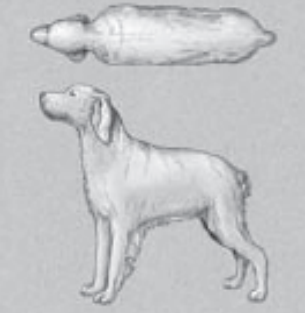

Sexo:

Condición reproductiva:

Peso:

Tabla de Condición corporal:

Grado de Condición Corporal (CC)	Descripción	Clasificación
1/5	Perros: Costillas, vértebras lumbares, huesos pélvicos y todas las prominencias óseas son evidentes desde cierta distancia. Ninguna grasa corporal perceptible. Pérdida obvia de masa muscular.	
2/5	Perros: Costillas fácilmente palpables y que pueden ser visibles sin grasa palpable. Las partes superiores de las vértebras lumbares son visibles. Los huesos pélvicos se hacen prominentes. Cintura obvia	

3/5	Costillas palpables sin exceso de recubrimiento de grasa. Se observa la cintura detrás de las costillas cuando se observa desde arriba. Se observa pliegue del abdomen.	
4/5	Costillas palpables con dificultad; pesada cubierta de grasa. Depósitos de grasa observables sobre el área lumbar y la base de la cola. Cintura ausente o apenas visible. Puede haber pliegue abdominal.	
5/5	Depósitos masivos de grasa sobre el tórax, columna y base de la cola. Cintura y pliegues abdominales ausentes. Depósitos de grasa en el cuello y extremidades. Distensión abdominal obvia.	

(Anón, 2005)

II. Anamnesis Remota

Tiempo de tenencia de la mascota:

Manejos sanitarios (vacunación, desparasitación):

Estado reproductivo (esterilización, número de partos, etc):

Enfermedades previas:

Alimentación:

Convivencia con otros animales:

Paseos (con o sin supervisión):

Anexo 2. Resumen de resultados

Individuo	tiempo	Método	Glicemia	CC	Individuo	tiempo	Método	Glicemia	CC
Ozzy	1	GS	103	3	Ozzy	1	AC	79	3
Ozzy	2	GS	122	3	Ozzy	2	AC	86	3
Ozzy	3	GS	117	3	Ozzy	3	AC	89	3
Ozzy	4	GS	114	3	Ozzy	4	AC	74	3
Ozzy	5	GS			Ozzy	5	AC		
Susy	1	GS	95	4	Susy	1	AC	74,5	4
Susy	2	GS	122	4	Susy	2	AC	90,5	4
Susy	3	GS	108	4	Susy	3	AC	78,5	4
Susy	4	GS	71	4	Susy	4	AC	70	4
Susy	5	GS			Susy	5	AC		
Sandokan	1	GS	145	4	Sandokan	1	AC	111	4
Sandokan	2	GS	74	4	Sandokan	2	AC	123	4
Sandokan	3	GS	124	4	Sandokan	3	AC	113	4
Sandokan	4	GS	100	4	Sandokan	4	AC	97,5	4
Sandokan	5	GS		4	Sandokan	5	AC		4
Mila	1	GS	94	4	Mila	1	AC	70,5	4
Mila	2	GS	113	4	Mila	2	AC	74,5	4
Mila	3	GS	126	4	Mila	3	AC	78	4
Mila	4	GS	92	4	Mila	4	AC	83	4
Mila	5	GS			Mila	5	AC		
Tango	1	GS	123	3	Tango	1	AC	103	3
Tango	2	GS	113	3	Tango	2	AC	86	3
Tango	3	GS	105	3	Tango	3	AC	88	3
Tango	4	GS	71	3	Tango	4	AC	71,5	3
Tango	5	GS			Tango	5	AC		
Tofi	1	GS	87	3	Tofi	1	AC	106,5	3
Tofi	2	GS	111	3	Tofi	2	AC	101,5	3
Tofi	3	GS	133	3	Tofi	3	AC	94,5	3
Tofi	4	GS	76	3	Tofi	4	AC	92	3
Tofi	5	GS			Tofi	5	AC		
Boby	1	GS	72	3	Boby	1	AC	81	3
Boby	2	GS	119	3	Boby	2	AC	82	3
Boby	3	GS	122	3	Boby	3	AC	79	3
Boby	4	GS	95	3	Boby	4	AC	78	3
Boby	5	GS			Boby	5	AC		
Jinx	1	GS	82	3	Jinx	1	AC	108	3

Jinx	2	GS	117	3	Jinx	2	AC	113	3
Jinx	3	GS	149	3	Jinx	3	AC	117,5	3
Jinx	4	GS	96	3	Jinx	4	AC	108	3
Jinx	5	GS			Jinx	5	AC		
Timon	1	GS	41	3	Timon	1	AC	95,5	3
Timon	2	GS	114	3	Timon	2	AC	102	3
Timon	3	GS	107	3	Timon	3	AC	99,5	3
Timon	4	GS	96	3	Timon	4	AC	98	3
Timon	5	GS			Timon	5	AC		
Helena	1	GS	83	3	Helena	1	AC	95	3
Helena	2	GS	104	3	Helena	2	AC	124	3
Helena	3	GS	112	3	Helena	3	AC	91	3
Helena	4	GS	88	3	Helena	4	AC	96	3
Helena	5	GS			Helena	5	AC		
Canela	1	GS	109	3	Canela	1	AC	103	3
Canela	2	GS	113	3	Canela	2	AC	100	3
Canela	3	GS	138	3	Canela	3	AC	103	3
Canela	4	GS	91	3	Canela	4	AC	105,5	3
Canela	5	GS	88	3	Canela	5	AC	90,5	3
Danka	1	GS	94	2,5	Danka	1	AC	86	2,5
Danka	2	GS	81	2,5	Danka	2	AC	80	2,5
Danka	3	GS	98	2,5	Danka	3	AC	86	2,5
Danka	4	GS	96	2,5	Danka	4	AC	89	2,5
Danka	5	GS	83	2,5	Danka	5	AC	86	2,5
Panda	1	GS	133	4	Panda	1	AC	108	4
Panda	2	GS	136	4	Panda	2	AC	111	4
Panda	3	GS	115	4	Panda	3	AC	91	4
Panda	4	GS	87	4	Panda	4	AC	95	4
Panda	5	GS	109	4	Panda	5	AC	103	4
Rufo	1	GS	99	4	Rufo	1	AC	78	4
Rufo	2	GS	98	4	Rufo	2	AC	87	4
Rufo	3	GS	116	4	Rufo	3	AC	98	4
Rufo	4	GS	77	4	Rufo	4	AC	86	4
Rufo	5	GS	82	4	Rufo	5	AC	87	4
Scrapy	1	GS	108	3	Scrapy	1	AC	93	3
Scrapy	2	GS	127	3	Scrapy	2	AC	90	3
Scrapy	3	GS	128	3	Scrapy	3	AC	106	3
Scrapy	4	GS	91	3	Scrapy	4	AC	106	3

Scrapy	5	GS	101	3	Scrapy	5	AC	107	3
Estrella	1	GS	141	4	Estrella	1	AC	84	4
Estrella	2	GS	118	4	Estrella	2	AC	89	4
Estrella	3	GS	127	4	Estrella	3	AC	87	4
Estrella	4	GS	101	4	Estrella	4	AC	96	4
Estrella	5	GS	115	4	Estrella	5	AC	91	4
Sandy	1	GS	108	4	Sandy	1	AC	96	4
Sandy	2	GS	105	4	Sandy	2	AC	82	4
Sandy	3	GS	114	4	Sandy	3	AC	83	4
Sandy	4	GS	77	4	Sandy	4	AC	86	4
Sandy	5	GS	99	4	Sandy	5	AC	106	4
Globita	1	GS	94	4	Globita	1	AC	80	4
Globita	2	GS	110	4	Globita	2	AC	91	4
Globita	3	GS	130	4	Globita	3	AC	93	4
Globita	4	GS	93	4	Globita	4	AC	104	4
Globita	5	GS	91	4	Globita	5	AC	100	4
Timo	1	GS	131	3	Timo	1	AC	96	3
Timo	2	GS	131	3	Timo	2	AC	100	3
Timo	3	GS	28	3	Timo	3	AC	111	3
Timo	4	GS	129	3	Timo	4	AC	91	3
Timo	5	GS	133	3	Timo	5	AC	96	3
Choco	1	GS	131	3	Choco	1	AC	86	3
Choco	2	GS	129	3	Choco	2	AC	97	3
Choco	3	GS	121	3	Choco	3	AC	84	3
Choco	4	GS	129	3	Choco	4	AC	96	3
Choco	5	GS	137	3	Choco	5	AC	96	3
Mamá	1	GS	111	3	Mamá	1	AC	91	3
Mamá	2	GS	148	3	Mamá	2	AC	113	3
Mamá	3	GS	126	3	Mamá	3	AC	86	3
Mamá	4	GS	130	3	Mamá	4	AC	95	3
Mamá	5	GS	128	3	Mamá	5	AC	96	3

Anexo 3. Datos obtenidos con *software* Infostat®

Tabla 8. Correlación de Pearson y valor de p entre glucosa sanguínea y condición corporal según tiempo.

Tiempo	Correlación de Pearson (r)	Valor de p
1	0,12	0,44
2	-0,10	0,53
3	0,04	0,81
4	-0,24	0,12
5	-0,06	0,78

Tabla 9. Coeficiente de correlación y valor de p entre glucosa sanguínea media y condición corporal según método de cuantificación y tiempo.

Tiempo	Método	Coeficiente de correlación (r)	Valor de p
1	AC	-0,22	0,35
1	GS	0,31	0,17
2	AC	-0,10	0,68
2	GS	-0,13	0,57
3	AC	-0,16	0,47
3	GS	0,15	0,5
4	AC	-0,10	0,66
4	GS	-0,34	0,13
5	AC	0,26	0,44
5	GS	-0,19	0,57

)