



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

VALORES DE REFERENCIA DE
HEMOGLOBINA GLUCOSILADA EN
DOS GRUPOS POBLACIONALES

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACOBIOLOGO
P R E S E N T A:
JORGE FLORES SANCHEZ

60

POTOSI

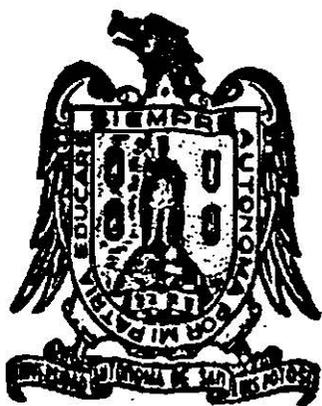
JUNIO DE 1994



T
RC660
F4
C.1



1080075660



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**VALORES DE REFERENCIA DE
HEMOGLOBINA GLUCOSILADA EN
DOS GRUPOS POBLACIONALES**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACOBIOLOGO
P R E S E N T A:
JORGE FLORES SANCHEZ

SAN LUIS POTOSI

JUNIO DE 1994



T.
RC660
#4



El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química Clínica de la Facultad de Ciencias Químicas, bajo la Dirección de la Srta. Q.F.B. Lucía Mendoza Troncoso a quien agradezco su apoyo y amistad en la etapa más importante de mi formación profesional

Mi agradecimiento a los Ginecólogos
Dr. Nicolas Pérez Arocha y Dr. Jesús Antonio
Briseño Sainz de la Asociación Potosina de
Ginecología y Obstetricia, por el apoyo brindado a
este trabajo, canalizando los pacientes adecuados.

De la misma manera expreso mi gratitud a
el Dr. René Pastor Magaña y Dr. Gilberto
Palomino del Hospital Materno Infantil por
el apoyo brindado en la canalización de
pacientes para este trabajo.

Un agradecimiento especial a los Laboratorios Farmacéuticos Lakeside S. A de C.V. por la donación de los equipos de hemoglobina glucosilada, utilizados en el presente estudio.

Mi agradecimiento al Dr. Roberto González Amaro y a la Q.F.B. Celia Aradillas García de la Facultad de Medicina, por su valiosa orientación en el estudio estadístico de este trabajo.

A mis padres Buenaventura y Eladio
Por el gran amor que les tengo
y porque este pequeño triunfo
no es mio, es de ustedes.

A mis hermanos:
A quienes adoro por el apoyo, estímulo y
cariño que nos tiene unidos.

A mis maestros, compañeros y amigos.

INDICE

	Pag.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
GENERALIDADES	3
ANTECEDENTES	9
HIPOTESIS	12
OBJETIVOS	13
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	16
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	33
ABREVIATURAS	34
BIBLIOGRAFIA	35

RESUMEN

Los valores de referencia son intervalos numéricos, establecidos tomando en cuenta edad, sexo, raza, dieta, ejercicio, menstruación, etc. y son de gran importancia porque, cuando son apropiados ayudan a la buena interpretación de los resultados que se obtienen en el laboratorio clínico para cada parámetro analizado. El empleo de valores de referencia obtenidos en condiciones no siempre especificadas y en poblaciones completamente diferentes (en cuanto a hábitos alimenticios, medio ambiente etc.) son generalmente los utilizados en San Luis Potosí, siendo esto un problema ya que por ejemplo, los valores de referencia obtenidos en población del Altiplano de la Ciudad de México tienen valores más elevados de hemoglobina que los habitantes del nivel del mar; es por ello necesario definir la población estudiada para establecer los valores de referencia. El presente estudio se realizó con la finalidad de establecer valores de referencia en San Luis Potosí para un parámetro de control del paciente diabético, como es la Hemoglobina glucosilada (HbA1c). A raíz de esto surgió la inquietud de establecer también los valores de referencia para la Glucosa, que es el parámetro de diagnóstico de la diabetes; debido a que se carece de valores de referencia de los parámetros antes mencionados, hubo la necesidad de establecerlos en San Luis Potosí, ya que los valores que se toman en la actualidad pertenecen a población Norteamericana. El estudio fue realizado en dos poblaciones fisiológicamente diferentes: 100 hombres y mujeres clínicamente sanos (sin patología diagnóstica), y 103 mujeres embarazadas, de 15 a 45 años, se escogieron dos poblaciones para hacer comparación de los valores de referencia obtenidos, debido a que en el grupo de mujeres embarazadas hay cambios fisiológicos que van a modificar los resultados. Los parámetros fueron valorados por el método de Cromatografía de intercambio iónico en microcolumnas (hemoglobina glucosilada) y Glucosa-oxidasa (Glucosa). En el estudio estadístico se utilizaron pruebas paramétricas: media (\bar{X}), desviación estándar (D.E), coeficiente de variación (C.V), percentiles y la prueba "t" de Student y no paramétricas: la prueba U de Mann-Whitney . En el grupo de mujeres embarazadas los resultados de glucosa presentaron distribución no Gaussiana (distribución anormal) en tanto, para la hemoglobina glucosilada se observó distribución Gaussiana (Normal). En el grupo de hombres y mujeres, ambos parámetros valorados presentaron distribución Gaussiana (Normal).

Los valores de referencia obtenidos para la Ciudad de San Luis Potosí fueron los siguientes:

GRUPO	Hemoglobina glucosilada	Glucosa
Hombres y mujeres	3.7 - 6.30 %	68.4 - 100.0 mg/dl
Mujeres embarazadas	3.0 - 6.35 %	64.3 - 105.0 mg/dl

Se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos para los parámetros valorados. El primer grupo se tomó como población general hombres y mujeres para obtener valores de referencia sin establecer diferencias en cuanto a sexo. Se concluye que si hay variación en cuanto a los valores de referencia obtenidos para ambos parámetros, ya que según los reportados por la literatura Internacional para la hemoglobina glucosilada son valores de 5.0 a 8.0 % y para la glucosa de 70.0 a 120.0 mg/dl, de esta manera se observa la importancia de establecer valores de referencia en San Luis Potosí.

INTRODUCCION

El laboratorio Químico Clínico actualmente juega un papel central en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de un número cada vez mayor de padecimientos , en los que se alteran significativamente los diversos componentes de la sangre y los fluidos biológicos.

Los resultados que emite un laboratorio químico clínico sólo son útiles si se garantiza su confiabilidad y si se cuenta con marcos de comparación que permitan su adecuada interpretación. El marco de comparación que hace posible la interpretación de los resultados, lo constituyen los valores de referencia, que deben ser obtenidos bajo las más estrictas normas de control y establecidos idealmente en poblaciones con características semejantes a la que pertenece el paciente (20,33,46).

Antes de 1970 se utilizaba el término "valores normales" para caracterizar un grupo de valores que ocurren en condiciones de salud; hoy es claro que el concepto mismo de "salud" tiene diferentes acepciones y que la "normalidad" por tanto es un concepto ampliamente subjetivo y arbitrario. A principios de la década de los setenta, la Federación Internacional de Química Clínica reunió a un grupo de expertos que junto con especialistas del comité Internacional para la estandarización en Hematología, se dieron a la tarea de formular una "teoría de valores de referencia" que incluyera nomenclatura y procedimientos uniformes para la producción de estos valores. Actualmente este grupo ha publicado un conjunto de recomendaciones (cierto rango de edad, sexo, hábitos alimenticios etc.) que proporcionan criterios uniformes para establecer valores de referencia (10,31,45,46,47).

En base a la teoría antes mencionada se realizó el presente estudio con la finalidad de establecer los valores de referencia para la hemoglobina glucosilada, marcador metabólico muy importante porque nos indica el grado de control del paciente diabético; de la misma manera se procedió para el parámetro de la glucosa, ya que ambas pruebas son de utilidad para la detección de la diabetes.

GENERALIDADES

El laboratorio clínico ha tenido y tiene una gran importancia en el diagnóstico patológico de muchas enfermedades, concretamente en este caso, en el diagnóstico de la diabetes. La diabetes ha sido motivo constante de estudio, por el aumento en su morbilidad y mortalidad (35). Sin embargo, en la actualidad en un laboratorio de Química Clínica no se limita al diagnóstico de la enfermedad, sino que también interviene en su control, hecho importante si tomamos en cuenta un paciente diabético no compensado, entendiéndose por compensado el mantener controlado el metabolismo de la glucosa, evitando altas y bajas en la glucosa, lo cual deteriora aún más el organismo del paciente, presentando manifestaciones como nefropatía (daño a nivel de riñon) etc.

Para tener un buen control de las enfermedades, es necesario hacer referencia a valores que hayan sido establecidos en condiciones semejantes a las del paciente como edad, sexo, raza, y semejante estado fisiológico, etc. En el caso particular de la diabetes, es necesario contar con valores de referencia para hemoglobina glucosilada, prueba que nos sirve para verificar el grado de control del paciente diabético y de la misma manera contar con valores de referencia para la glucosa, prueba diagnóstica de la diabetes, los cuales serán obtenidos en las condiciones señaladas anteriormente.

La diabetes se define como una enfermedad metabólica, crónica, degenerativa, que se caracteriza por la destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas, lo cual trae como consecuencia la falta de insulina. La insulina es una hormona de vital importancia para que la glucosa sea absorbida por estas células , en donde se descompone y se convierte en energía (28,39).

La primera descripción de la enfermedad se encontró en el papiro de Ebers, en Egipto, 1,500 A.C. En este papiro se habla ya de un tratamiento de la poliuria síntoma principal de la diabetes o como ellos la denominaban "inundación de orina". ARETEO y CELSO, médicos de los primeros años de nuestra era, le dieron el nombre de diabetes (del latín, sifón), definiéndola como: "Enfermedad en que la carne de los miembros se disuelve y se va por la orina" (17). En 1675, THOMAS WILLIS detectó, por medio del sabor, el contenido de glucosa en la orina, y le adjudicó el nombre de mellitus (del griego, miel). En 1869, LANGERHANS descubrió en el páncreas los islotes que más tarde recibirían su nombre. En 1889, MERING y MINKOWOKY reprodujeron el cuadro clínico de la enfermedad al extirpar el páncreas a perros normales. En 1921, BANTING y BEST demostraron las propiedades hipoglucemiantes de extractos pancreáticos administrados a perros con pancreatectomía total, y aislaron la insulina, iniciándose una nueva era en la terapéutica e investigación de esta enfermedad. Así de esta manera se han clasificado dos tipos de diabetes, la diabetes mellitus primaria a la que corresponde la Diabetes mellitus Insulinodependiente y la Diabetes mellitus No Insulinodependiente, y la diabetes mellitus secundaria la cual se asocia a otras condiciones o síndromes de etiología hormonal (34).

Existen varios factores de riesgo responsables de la incidencia de diabetes (40,24):

a).- GENETICO. El riesgo de desarrollar Diabetes Mellitus Insulinodependiente (DMID) esta relacionado con ciertos genes de la región HLA-D (Human Leukocyte Antigens) del complejo mayor de histocompatibilidad, localizados en el cromosoma 6.

Las proteínas cuya síntesis dirigen estos genes son heterodímeros, con una cadena alfa y una beta, cuya función es presentar los antígenos en las células T (producidas en el Timo y siendo una de las funciones la síntesis de anticuerpos) para activarlas. Estas proteínas se expresan en la membrana de las células beta de los islotes de Langerhans en la DMID y no en condiciones normales.

b).- **OBESIDAD.** El riesgo que la induce esta influido por su duración, grado y distribución corporal; así por ejemplo, el acúmulo de grasa abdominal medido por la relación de la circunferencia entre la cintura y la cadera (obesidad troncal) se encuentra en mayor proporción en la Diabetes Mellitus primaria No Insulinodependiente (DMNID). Este tipo de obesidad es muy frecuente en el sexo masculino en el cual, además, hay preponderancia de las células grasas hipertróficas; a diferencia de las mujeres en dónde predomina la hiperplasia del adipocito y el acúmulo de grasa en las regiones gluteofemorales (obesidad ginecoide).

c).- **INTOLERANCIA A LA GLUCOSA.** Es un estado de morbilidad en donde el metabolismo de los carbohidratos se encuentra alterado, esta alteración se comprueba al realizar una curva de tolerancia a la glucosa en donde sí se obtienen valores entre 110 y 140 mg/dl se trata de una intolerancia a la glucosa, mientras que si a los 90 minutos hay valores mayores de 140 mg/dl se trata de un diagnóstico de diabetes. Los criterios que propone el Grupo Nacional de Datos sobre Diabetes (GNDD) para el diagnóstico de la diabetes son:

- 1.- Glucemia en ayunas mayor que los valores de referencia (70.0 - 120.0 mg/dl) (48).
- 2.- El valor de glucosa 2 horas después de la carga oral debe estar entre los valores normales y los valores diagnósticos de diabetes, es decir entre 140 y 199 mg/dl para plasma venoso o entre 120 y 179 mg/dl para sangre venosa, siendo estos valores iguales tanto para hombres como para mujeres.
- 3.- Un valor de glucosa entre la carga oral y las 2 horas debe estar inequívocamente elevado, es decir, ser igual o mayor de 200 mg/dl en plasma venoso o 180 mg/dl en sangre venosa a los 30, 60 o 90 minutos durante la curva de tolerancia a la glucosa.

La mayoría de los pacientes con intolerancia a la glucosa son obesos y además hiperinsulinémicos.

d).- **FACTORES DE MENOR PREVALENCIA:**

EDAD. La DMID puede ocurrir a cualquier edad, pero en cualquier circunstancia geográfica y en cualquier grupo étnico es predominante en los grupos de edad entre 0 y 29 años, dentro de este margen existe una mayor vulnerabilidad en las poblaciones infantil y adolescente (44). Sin embargo en San Luis Potosí no hay un estudio epidemiológico que nos indique la prevalencia de la DMID de acuerdo a la edad, en tanto que para la DMNID sí existen datos de San Luis Potosí que indican que la prevalencia de DMNID ocurre entre los grupos de edad de 15 a 24 años y de 55 a 64 años (35).

SEXO. El sexo femenino es el más propenso a desarrollar una diabetes, relacionado esto a los constantes cambios hormonales que sufre su organismo desde su etapa adolescente. En relación al sexo masculino, es más común detectar esta patología en la primera infancia (menos de 5 años) o en los primeros años de la adolescencia. Se ha encontrado que la prevalencia de diabetes es el doble en las mujeres sobre los hombres (35, 40).

EMBARAZO. Es un factor de riesgo que se ve afectado cuando se inicia una intolerancia a la glucosa durante el embarazo, que es debida a cambios metabólicos y hormonales. Las hormonas que son secretadas durante el embarazo tienen efecto

diabetogénico porque producen alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos. Los estrogénos, la progesterona, el lactógeno placentario y el cortisol, son antagonistas de la insulina; por lo tanto, la captación periférica y la utilización de glucosa disminuyen (34).

ADMINISTRACION DE MEDICAMENTOS. Los corticoides, las tiazidas, algunos anticonceptivos, etc. aumentan la incidencia de la diabetes (34).

e).- **FACTORES ATRIBUIBLES AL MEDIO.** Residir en medios urbanos que determina un estilo de vida más sedentario y dietas ricas en grasa y carbohidratos refinados, así como un mayor estrés (24).

En el diagrama que a continuación se incluye, denominado balanza de la vida, se deja con claridad en forma objetiva que en conjunto todos estos factores harán que aumente la incidencia de la diabetes, más sin embargo algunos de ellos los podemos controlar como la Dieta, Obesidad, Medicamentos etc.

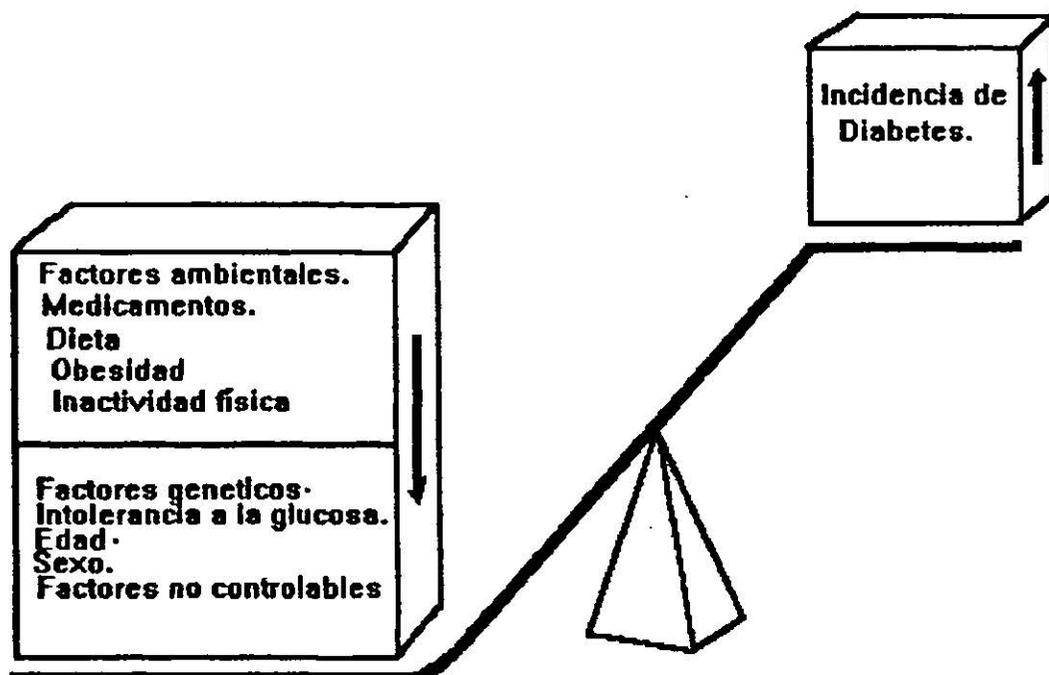


Fig. No. 1 Balanza de la vida.

CLASIFICACION.

En torno a la clasificación de la diabetes han surgido diversos esquemas, siendo los más aceptados el del comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del Grupo Nacional de Datos sobre Diabetes de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica.

Clases y subclases de la diabetes mellitus.

Al hacer una revisión de la clasificación, es evidente que la diabetes es un síndrome clínico que puede obedecer a distintas causas y que existen tanto formas primarias (Diabetes mellitus insulín dependiente y Diabetes mellitus no insulín dependiente) como formas secundarias de la enfermedad (enfermedad pancreática, enfermedad de etiología hormonal inducida por drogas o sustancias químicas, anomalías de los receptores de insulina, etc.) (40).

Diabetes mellitus primaria insulino dependiente (DMID).

Es su forma más grave, la diabetes mellitus primaria es una enfermedad autoinmune crónica que provoca la destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans y se caracteriza por la falta de insulina. Además, en la diabetes el sistema inmunológico se encuentra modificado. Así, los autoanticuerpos tiroideos y gástricos se encuentran aumentados hasta 3 veces más en los enfermos con diabetes "juvenil" (DMID) con respecto a los controles normales (41).

Diabetes mellitus primaria no insulino dependiente (DMNID).

Es la forma más frecuente de la diabetes mellitus primaria (85 a 95 % del total). Suele iniciarse después de la cuarta década y su prevalencia aumenta con la edad. El 80 a 85 % de los pacientes con DMNID son obesos en el momento del diagnóstico. En la DMNID el páncreas es incapaz de mantener una producción adecuada de insulina ante una demanda aumentada por disminución de la acción biológica de la hormona.

Los principales factores adquiridos que contribuyen al desarrollo de DMNID son aquellos que se asocian a aumento en la resistencia a insulina. Entre éstos, los principales son inactividad física, embarazo y edad avanzada (11,40).

Diabetes mellitus relacionada con mala nutrición.

Se han descrito dos subtipos: la diabetes fibrocalculosa y la diabetes relacionada con desnutrición y deficiencia de proteínas.

La variedad fibrocalculosa se define histopatológicamente por la presencia de fibrosis perilobular e interlobular con reemplazo progresivo de los acinos y de los islotes por tejido fibroso.

La variedad relacionada con desnutrición y deficiencia proteínica no tiene calcificaciones pancreáticas, se asocia a desnutrición grave y emaciación (última etapa de la desnutrición grave). Suele afectar a individuos jóvenes y se caracteriza por una secreción deficiente de insulina, cierto grado de insensibilidad periférica y resistencia a la cetosis. Su prevalencia es alta en India, Africa, algunas islas del sudeste asiático y de Oceanía, y en Jamaica (40).

Diabetes mellitus asociada con ciertas condiciones o síndromes.

Esta subclase incluye a varios tipos de diabetes (Cuadro 1) en los cuales su etiología es conocida. Las más frecuentes son diabetes por enfermedad pancreática; alteraciones hormonales como en acromegalia (enfermedad debida a la secreción excesiva de la hormona de crecimiento por las células acidófilas de la hipófisis anterior), síndrome de Cushing (enfermedad de origen suprarrenal que frecuentemente se acompaña de un exceso de glucocorticoides), inducido por drogas o sustancias químicas (esteroides, tiazidas, anticonceptivos); anomalías de los receptores de insulina, etc. (34).

Diabetes mellitus gestacional.

Entendemos por diabetes gestacional, aquella situación en la que junto a una glucemia basal normal, existe una intolerancia glucídica que surge en el embarazo y desaparece con la finalización del mismo. Se trata siempre de un diagnóstico retrospectivo a confirmar una vez terminada la gestación (6,28).

Se estima que la diabetes gestacional ocurre en alrededor del 2 % de todos los embarazos. Las principales complicaciones son una mayor morbimortalidad perinatal materna y un aumento en la frecuencia de pérdida de productos viables (30). El riesgo de desarrollo de diabetes 5 a 10 años después del parto está aumentado (34).

Cuadro No. 1 Clasificación de la diabetes mellitus y otras categorías

1.- Diabetes Mellitus Primaria:

Diabetes mellitus insulino dependiente (DMID)

Diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID)

- (que involucra a personas obesas y no obesas).

Otras categorías:

2.- Diabetes Mellitus relacionada con mala nutrición

Diabetes pancreática fibrocalculosa

Diabetes relacionada con desnutrición y deficiencia proteica

3.- Diabetes asociada con otras condiciones o síndromes

A).- Transtornos pancreáticos:

a).- Extirpación quirúrgica del páncreas

b).- Tumores pancreáticos externos

c).- Pancreatitis aguda o crónica

B).- Padecimientos endocrinológicos:

a).- Hipofisarios: Acromegalia

b).- Suprarrenales: Síndrome de Cushing

c).- Tiroideos: Hipertiroidismo

4.- Diabetes gestacional

5.- Intolerancia a la glucosa

(que puede involucrar a personas obesas y no obesas)

SINTOMATOLOGIA.

La primera sintomatología detectable en un diabético es:

a).- Poliuria (aumento en la excreción del volumen urinario normal).

b).- Polidipsia (sed excesiva).

c).- Polifagia (hambre voraz).

d).- Autofagia (nutrición del organismo por el consumo de los materiales de sus propios tejidos en ayuno).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

La diabetes se detecta y se controla en el laboratorio de Química Clínica con la valoración de parámetros como: Curva de tolerancia a la glucosa, Glucemia, Glucosuria y actualmente por determinación de Hemoglobina glucosilada.

En la edad media los Alquimistas basaban su diagnóstico en probar la orina para reconocer el característico sabor dulzón (17); pasaron varios siglos hasta que se comprobó el papel reductor de la glucosa, ya comprobada su estructura y características químicas surgió la evolución metodológica a partir de las técnicas de oxido-reducción como la de Folin-Wu (1920), Shaffer y Hartmann (1921), Somogyi-Nelson (1944); así

como, el uso de un autoanalizador que empleaba previamente la diálisis de Dubowski (1962), hasta llegar a los métodos enzimáticos que actualmente son utilizados como el de la glucosa-oxidasa, descrito por Trinder (1969) (21,49).

Sin embargo, la detección de glucosa real avanza con el descubrimiento de un marcador metabólico (hemoglobina glucosilada) que se produce durante la vida media del hematíe que es de un período de 120 días y que es utilizado actualmente para verificar el grado de control del paciente diabético (16). Esta hemoglobina glucosilada resulta de la unión del radical amino terminal (-NH₂) del aminoácido valina de la cadena beta de la hemoglobina (Fig. No. 2) con la glucosa, llevándose a cabo mediante una reacción lenta no enzimática de tipo irreversible (Fig. No. 3) (12, 14). La determinación de este parámetro es importante porque es la única manera de confirmar que el paciente ha estado controlado en un período de dos meses anteriores al día de la determinación de este parámetro, debido a que este es el tiempo de vida media del hematíe.

La determinación de hemoglobina glucosilada es un parámetro de rutina en Estados Unidos de Norteamérica, Europa y Japón desde 1985 (14). En México hasta hace poco se comenzó a establecer la utilidad de esté parámetro, y en esta Ciudad de San Luis Potosí es poco utilizada su valoración en los laboratorios de rutina. Por lo tanto es necesario establecer valores de referencia del parámetro hemoglobina glucosilada a fin de proporcionar al Químico Clínico una base numérica en la que pueda basar sus resultados.

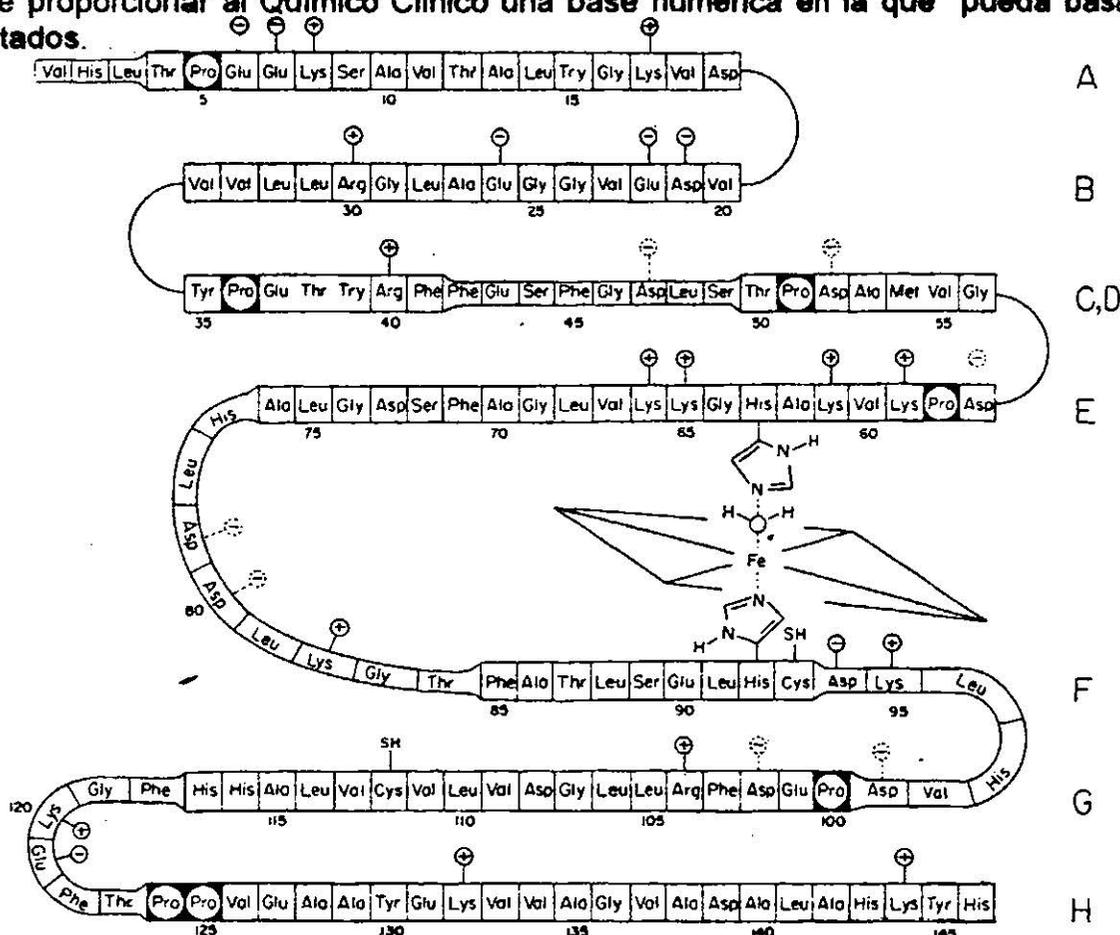


Fig. No. 2 Secuencia de aminoácidos de la cadena beta de la hemoglobina humana. Los aminoácidos representados por cuadrados corresponden a los residuos en las hélices beta y los representados por rectángulos, a los residuos que se encuentran en regiones no helicoidales de la cadena. Las letras A a H indican las regiones helicoidales de la molécula (32).

ANTECEDENTES

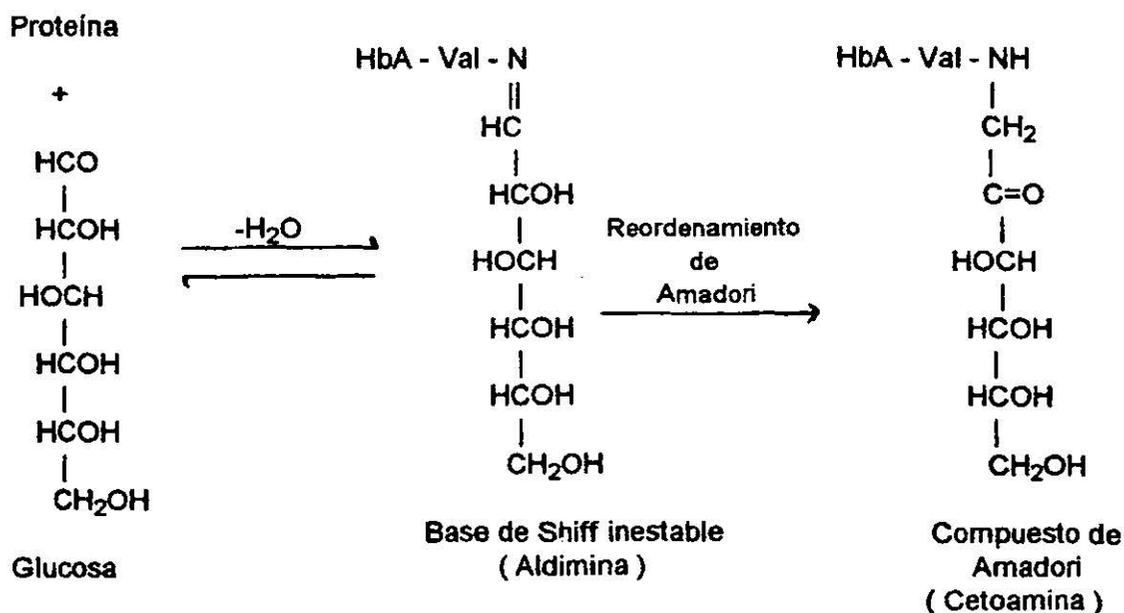
Louis Camille Maillard en 1912 (1) demostró que el cambio de color de ciertos alimentos al envejecer se debía a la reacción entre azúcares y proteínas. Maillard sugirió posteriormente que esta reacción tendría implicaciones en distintos campos de la ciencia, entre ellas en la medicina y particularmente en el caso de pacientes diabéticos.

Medio siglo después, la identificación en la hemoglobina de una pequeña fracción modificada por su reacción con hidratos de carbono demostró, indirectamente que la reacción de Maillard ocurría "in vivo". Su determinación fué utilizada inicialmente como otro indicador del grado de control metabólico del diabético. Estas aportaciones llevaron a un sinnúmero de investigadores a estudiar tanto "in vivo" como "in vitro" la glucosilación (reacción en dónde sólo participa la glucosa y la hemoglobina) y la glicosilación (reacción en dónde no sólo participa la glucosa sino que también lo pueden hacer otros monosacáridos con la hemoglobina humana).

La reacción que se lleva a cabo entre la Glucosa y la Hemoglobina (glucosilación) no es enzimática, más bien se trata de una reacción irreversible cuya cinética es de primer orden (3, 4) (Fig. No. 3), ya que depende de la concentración de glucosa en el entorno del hematíe durante toda su vida media (120 días) (5, 26, 40). La reacción entre el grupo aldehído del monosacárido y el grupo amino de la proteína produce una aldimina inestable (base de Schiff). La base de Schiff así formada por medio de un reordenamiento intramolecular lento se transforma en un compuesto más estable (cetoamina) (13).

Fig. No. 3 Reacción de la glucosa con proteínas para formar proteínas glucosiladas.

HbA - Val - NH₂



La hemoglobina glucosilada (HbA1c) determinada cromatográficamente consiste en dos fracciones, una lábil (aldimina) y otra estable (cetoamina). Puesto que la concentración relativa de la fracción lábil parece responder a cambios agudos en la glucemia, el nivel total de HbA1c en diabéticos podría reflejar no sólo los valores integrados de glucemia durante largos períodos de tiempo, sino que podría también influenciarse por las fluctuaciones diarias (8, 48).

En 1958 Allen determinó la heterogenicidad de las hemoglobinas utilizando el método de cromatografía de intercambio iónico de hemolizados, observando las diferentes fracciones de hemoglobina, unas genéticamente determinadas y otras como resultado de alteraciones posteriores de la hemoglobina A (29) :

1.- Fracciones genéticamente determinadas (15) :

Período Embrionario:

Hb Gower 1 con cuatro cadenas de proteínas ($\xi_2 \epsilon_2$).

Hb Gower 2 con cuatro cadenas de proteínas ($\alpha_2 \epsilon_2$).

Hb Portland con cuatro cadenas de proteínas ($\xi_2 \gamma_2$).

Etapas Fetal:

HbF con cuatro cadenas de proteínas ($\alpha_2 \gamma_2$) (representa el 80 % del total). En la etapa adulta sólo menos del 0.5 %.

2.- Alteraciones posteriores de la hemoglobina A, a partir del sexto mes de vida (9) :

HbA₀ con cuatro cadenas ($\alpha_2 \beta_2$) (representa el 90 - 95 % del total de la HbA1).

HbA₂ con cuatro cadenas ($\alpha_2 \delta_2$) (representa el 5 % del total).

La HbA1 es una fracción menor de la hemoglobina adulta HbA₀, que a su vez, tiene otras sub-fracciones: 1a₁, 1b, 1c, 1a₂; siendo la HbA1c la más abundante y de verdadero interés, por llevar unida una molécula de glucosa en cada una de las cadenas beta de la HbA; las otras fracciones llevan otros azúcares distintos de la glucosa (16). La HbA1b, es un híbrido asimétrico en el que sólo una de las cadenas beta está glucosilada (18), la HbA1a₁, lleva unida una fructosa 1-6 difosfato en una de las cadenas beta y la HbA1a₂ lleva unida una glucosa 6-fosfato (23, 38).

En 1968 en el Hospital de Téheran Irán, el Dr. Samuel Rahbar estudiando hemoglobinopatías poco frecuentes encontró que dos pacientes tenían una hemoglobina A diferente a las conocidas, ambos sujetos eran diabéticos. Esta hemoglobina fué identificada de las células rojas de los pacientes diabéticos, por electroforésis debido a que poseen movimiento electroforético (36). Un año después, el Dr. Samuel Rahbar la identificó por cromatografía de intercambio iónico, definiéndola fracción HbA1c (37).

Posteriormente, en 1971 Trivelli y otros investigadores encontraron que la HbA1c estaba significativamente elevada en los diabéticos con relación a las personas normales (29,50). La valoración de la hemoglobina glucosilada tiene un enorme interés en el control del diabético ambulatorio (paciente no interno en alguna institución de salud) y más aún en el control del diabético de ambiente rural, de por sí indisciplinado y de poca cultura no acostumbrado a realizarse quincenal o mensualmente una determinación de glucemia y glucosuria (glucosa-oxidasa), esta determinación no tiene valor para verificar si el paciente está compensado, debido a que el paciente puede autocontrolarse a través de la dieta o el medicamento sólo uno o dos días antes de dicha valoración, lo cuál no proporciona un dato exacto del grado de control del diabético llevando al Químico Clínico y al Médico a una falsa creencia de tener un enfermo bien compensado.

Este error o engaño que sufre el Químico Clínico y el Médico se puede obviar con la determinación de hemoglobina glucosilada cada dos meses, dando a conocer de manera más exacta el grado de control del diabético.

En base a la importancia de la valoración de la hemoglobina glucosilada surgieron diversas metodologías para su valoración; como la Cromatografía de intercambio iónico en microcolumnas, un Método colorimétrico de Otero y col. (27), y la Electroforesis. La metodología más utilizada ha sido la de Cromatografía de intercambio iónico; sin embargo, este método no proporcionaba una buena separación de la fracción HbA1c de las demás. Esto vino a solucionarse con los estudios realizados por Schiffreen en 1983 (42), en donde demostró que modificando las soluciones amortiguadoras es posible, con las técnicas en microcolumnas, separar la HbA1c de las demás fracciones. Posteriormente, Betton y col. (2), confirmaron esta observación y concluyeron que este método (Cromatografía de intercambio iónico en microcolumnas) es realmente útil para la determinación de hemoglobina glucosilada en el laboratorio clínico (7, 38).

Sin embargo, continúan los estudios en busca de nuevos métodos para la determinación de hemoglobina glucosilada, como es el caso del método actual de Cromatografía líquida de alta resolución el cuál es un método más específico y exacto para la separación de la fracción de la hemoglobina, hecho que fue demostrado por Mariel en 1990 (22).

HIPOTESIS DE TRABAJO

- 1.- **Es factible determinar valores de referencia para hemoglobina glucosilada y glucosa en San Luis Potosí.**
- 2.- **Los resultados de las mujeres embarazadas con diabetes mellitus deben ser relacionados con los valores de referencia establecidos por la literatura Internacional, o es mejor referirlos a los valores de referencia obtenidos en este estudio.**

OBJETIVOS

- 1.- Establecer valores de referencia de hemoglobina glucosilada y glucosa en dos grupos poblacionales en la Ciudad de San Luis Potosí:
 - a).- Población de hombres y mujeres clínicamente sanos.
 - b).- Población de mujeres embarazadas clínicamente sanas.

- 2.- Valorar la hemoglobina glucosilada mediante un seguimiento a un grupo poblacional de riesgo (mujeres embarazadas diabéticas y con intolerancia a la glucosa) y detectar paralelamente un daño precoz renal mediante la detección de Microalbuminuria.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL HUMANO

i.- Para establecer valores de referencia se muestrearon dos grupos poblacionales:

A).- 100 hombres y mujeres clínicamente sanos

B).- 103 mujeres embarazadas clínicamente sanas

Ambos grupos debían reunir los siguientes criterios para ser admitidos al estudio:

a).- Sin antecedentes de familiares diabéticos

b).- Rango de edad 15 a 45 años

c).- Sin tratamiento hormonal

II.- 12 mujeres embarazadas diabéticas.

III.- 2 mujeres embarazadas con intolerancia a la glucosa

MUESTRAS.

Las muestras de mujeres embarazadas clínicamente sanas y patológicas fueron tomadas en el Hospital Central Dr. "Ignacio Morones Prieto" y Hospital Materno Infantil. El grupo de hombres y mujeres para valores de referencia se tomó de un grupo de estudiantes y personal de la Facultad de Ciencias Químicas.

EQUIPO DE TRABAJO

1.- Espectrofotómetro Perkin Elmer Junior Model 35

2.- Baño serológico

3.- Termómetro

4.- Centrifuga Solbat aparatos científicos. Mod. 1-12.

5.- Micropipetas de 50 microlitros

6.- Material de vidrio (Pipetas serológicas de 1.0, 2.0, 5.0 y 10.0 ml., tubos de ensaye de 7X100mm, 10X100mm y 16 X150mm, gradilla).

7.- Kit de equipos de hemoglobina glucosilada

8.- Kit de equipos de glucosa-oxidasa GOD - PAP (este mismo kit es utilizado en las muestras para la curva de tolerancia).

9.- Micral-Test, tiras reactivas para la determinación semicuantitativa inmunoquímica de una microalbuminuria.

METODOS.

GLUCEMIA. Se aplicó el método de la glucosa-oxidasa para valorar glucemias en suero de los pacientes.

CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA. Se aplicó el método de la glucosa-oxidasa para valorar glucemias en suero de las pacientes embarazadas que reunían los criterios diagnósticos para realizar esta prueba. Se realizó de la siguiente manera:

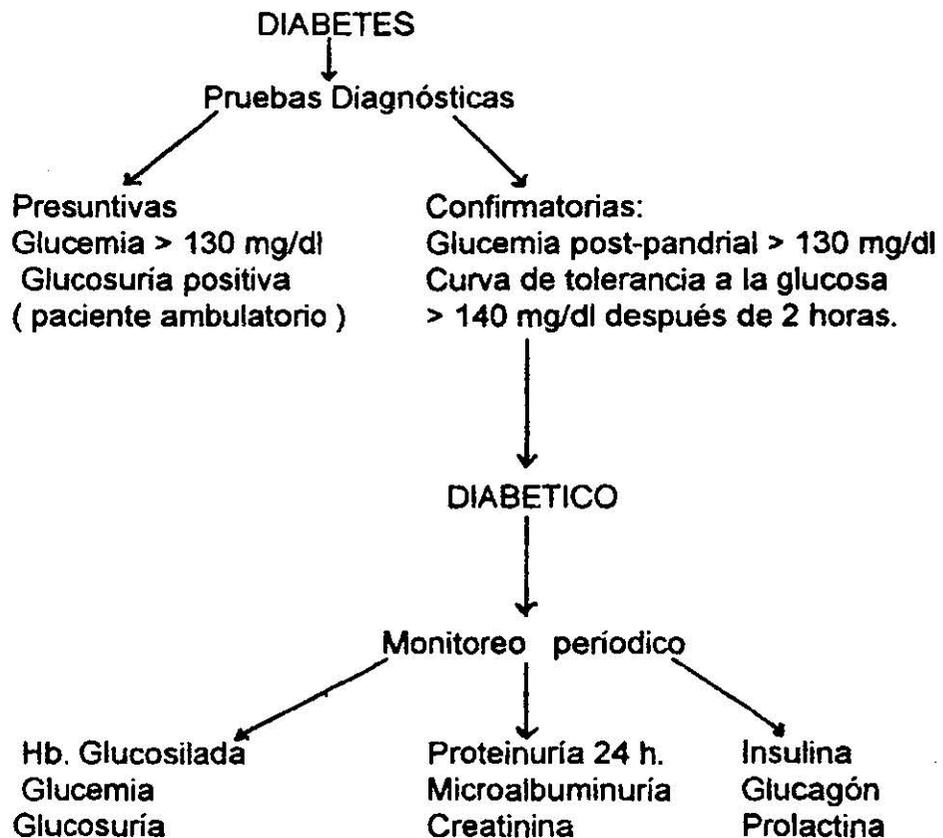
Se le dió a la paciente embarazada una carga oral de 100 g de dextrosa en 200 ml de agua. Se tomaron muestras de sangre venosa en los siguientes tiempos: basal, 30, 60, 120 y 180 minutos.

HEMOGLOBINA GLUCOSILADA. Se valoró en sangre total, por el método de cromatografía de intercambio iónico en microcolumnas (Boehringer Mannheim GmbH).

MICROALBUMINURIA. Se valoró en orina (primera micción de la mañana), por un método inmunoquímico semicuantitativo de Micral-Test.

Para el seguimiento de mujeres embarazadas diabéticas se diseñó un protocolo para la valoración del paciente diabético en el laboratorio (Fig. No. 4), el cuál se siguió hasta la etapa del monitoreo periódico, sin incluir la valoración de hormonas (Insulina, Glucagón, Prolactina). Para los grupos clínicamente sanos solamente se valoró Glucosa y Hemoglobina glucosilada con la finalidad de obtener valores de referencia.

Fig. No. 4 Protocolo de valoración del paciente diabético en el laboratorio.



RESULTADOS

Los grupos de estudio lo forman 100 hombres y mujeres clínicamente sanos y 103 mujeres embarazadas, con edades comprendidas entre 15 y 45 años. En la tabla No. 1-4 se presentan los resultados obtenidos para cada parámetro en las respectivas poblaciones, ordenados en forma creciente para facilitar su estudio estadístico, y en la tabla No. 5 los resultados del grupo de riesgo (mujeres embarazadas diabéticas). En la tabla No. 6-7 se presenta la estimación de la media (\bar{X}), desviación estándar (D.E), error estándar (E.E) y los percentiles 10 y 90 para glucosa y hemoglobina glucosilada en los dos grupos para valores de referencia estudiados, en donde se expresan los valores estadísticos obtenidos para cada intervalo de concentración. En la gráfica No. 1-4 se presenta la distribución de los valores de cada parámetro y población estudiada. En la gráfica No. 5 se muestran dos curvas de tolerancia a la glucosa realizadas a dos mujeres durante el embarazo, las cuales fueron las únicas que durante el estudio presentaron los criterios diagnósticos para la realización de la curva de tolerancia a la glucosa. Para observar el grado de significancia entre grupos para la glucosa, fué necesario utilizar una prueba no paramétrica, la prueba U de Mann-Whitney dónde se obtuvo una significancia de ($P > 0.05$) y para la hemoglobina glucosilada se utilizó una prueba paramétrica, la prueba " t " de Student dónde se obtuvo una significancia de ($P < 0.05$), la cual se relaciona directamente con las medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar y coeficiente de variación) obtenidos (Cuadro No. 2,3). En el cuadro 4 se muestran los valores de referencia obtenidos para glucosa y hemoglobina glucosilada en las dos poblaciones fisiológicamente diferentes.

Tabla No. 1 Resultados de HbA1c (%) obtenidos del grupo de hombres y mujeres para valores de referencia.

No	Concentración (%)	No.	Concentración (%)	No.	Concentración (%)
01	3.6	35	4.7	68	5.4
02	3.6	36	4.7	69	5.4
03	3.7	37	4.7	70	5.4
04	3.7	38	4.8	71	5.5
05	3.8	39	4.8	72	5.5
06	3.8	40	4.8	73	5.5
07	3.8	41	4.8	74	5.5
08	4.0	42	4.8	75	5.6
09	4.0	43	4.8	76	5.7
10	4.0	44	4.8	77	5.7
11	4.0	45	4.8	78	5.8
12	4.0	46	4.9	79	5.8
13	4.0	47	4.9	80	5.8
14	4.0	48	5.0	81	5.8
15	4.2	49	5.0	82	5.8
16	4.3	50	5.0	83	5.8
17	4.3	51	5.0	84	5.9
18	4.3	52	5.0	85	5.9
19	4.3	53	5.0	86	6.0
20	4.3	54	5.0	87	6.0
21	4.3	55	5.0	88	6.0
22	4.4	56	5.0	89	6.1
23	4.4	57	5.0	90	6.1
24	4.4	58	5.0	91	6.3
25	4.5	59	5.0	92	6.4
26	4.5	60	5.0	93	6.4
27	4.5	61	5.0	94	6.4
28	4.5	62	5.1	95	6.4
29	4.5	63	5.2	96	6.5
30	4.6	64	5.2	97	6.5
31	4.6	65	5.2	98	6.6
32	4.6	66	5.3	99	6.6
33	4.6	67	5.3	100	6.6
34	4.6				

De los resultados presentados el 45 % corresponden a valores obtenidos en hombres y el 55 % en mujeres.

Tabla No. 2 Resultados de HbA1c (%) obtenidos del grupo de mujeres embarazadas para valores de referencia.

No.	Concentración (%)	No.	Concentración (%)	No.	Concentración (%)
01	2.8	36	4.3	70	5.2
02	2.8	37	4.4	71	5.2
03	2.8	38	4.4	72	5.3
04	2.8	39	4.5	73	5.3
05	2.8	40	4.5	74	5.3
06	3.0	41	4.5	75	5.4
07	3.0	42	4.5	76	5.4
08	3.0	43	4.5	77	5.4
09	3.0	44	4.5	78	5.4
10	3.1	45	4.6	79	5.4
11	3.1	46	4.6	80	5.5
12	3.3	47	4.6	81	5.5
13	3.3	48	4.6	82	5.6
14	3.3	49	4.6	83	5.6
15	3.3	50	4.7	84	5.6
16	3.4	51	4.7	85	5.7
17	3.4	52	4.8	86	5.8
18	3.4	53	4.8	87	5.9
19	3.4	54	4.8	88	5.9
20	3.6	55	4.8	89	5.9
21	3.6	56	4.8	90	6.0
22	3.6	57	4.9	91	6.0
23	3.8	58	4.9	92	6.0
24	3.8	59	4.9	93	6.1
25	3.8	60	4.9	94	6.1
26	3.8	61	4.9	95	6.3
27	3.9	62	4.9	96	6.3
28	3.9	63	5.0	97	6.3
29	4.0	64	5.0	98	6.6
30	4.0	65	5.0	99	6.6
31	4.0	66	5.0	100	6.6
32	4.0	67	5.1	101	6.7
33	4.2	68	5.1	102	6.9
34	4.2	69	5.2	103	6.9
35	4.3				

Tabla No. 3 Resultados de glucemia (mg/ dl) obtenidos del grupo de hombres y mujeres para valores de referencia.

No.	Concentración (mg/dl)	No.	Concentración (mg/dl)	No.	Concentración (mg/dl)
01	60.0	35	80.9	68	88.9
02	60.0	36	81.0	69	88.9
03	61.2	37	81.6	70	89.0
04	65.5	38	82.2	71	89.4
05	66.0	39	82.5	72	91.0
06	70.0	40	82.5	73	91.0
07	71.0	41	84.0	74	91.2
08	71.0	42	84.0	75	91.5
09	71.3	43	84.0	76	91.8
10	71.5	44	84.0	77	92.0
11	71.6	45	84.0	78	92.0
12	71.8	46	84.3	79	92.0
13	72.2	47	85.0	80	92.0
14	72.2	48	85.1	81	92.0
15	72.4	49	85.2	82	92.2
16	73.0	50	85.2	83	92.8
17	73.0	51	85.2	84	92.8
18	75.0	52	85.4	85	93.0
19	75.2	53	85.5	86	93.4
20	75.3	54	86.0	87	93.5
21	75.4	55	86.0	88	93.9
22	76.5	56	86.1	89	94.0
23	76.7	57	86.2	90	94.0
24	77.0	58	86.3	91	95.6
25	77.6	59	86.4	92	96.0
26	78.0	60	87.4	93	97.0
27	78.1	61	87.6	94	97.0
28	78.9	62	87.7	95	99.0
29	79.0	63	87.7	96	99.0
30	79.4	64	87.7	97	101.0
31	79.4	65	88.0	98	101.0
32	79.6	66	88.6	99	103.0
33	79.6	67	88.7	100	110.0
34	80.0				

De los resultados presentados el 45 % corresponden a valores obtenidos en hombres y el 55% en mujeres.

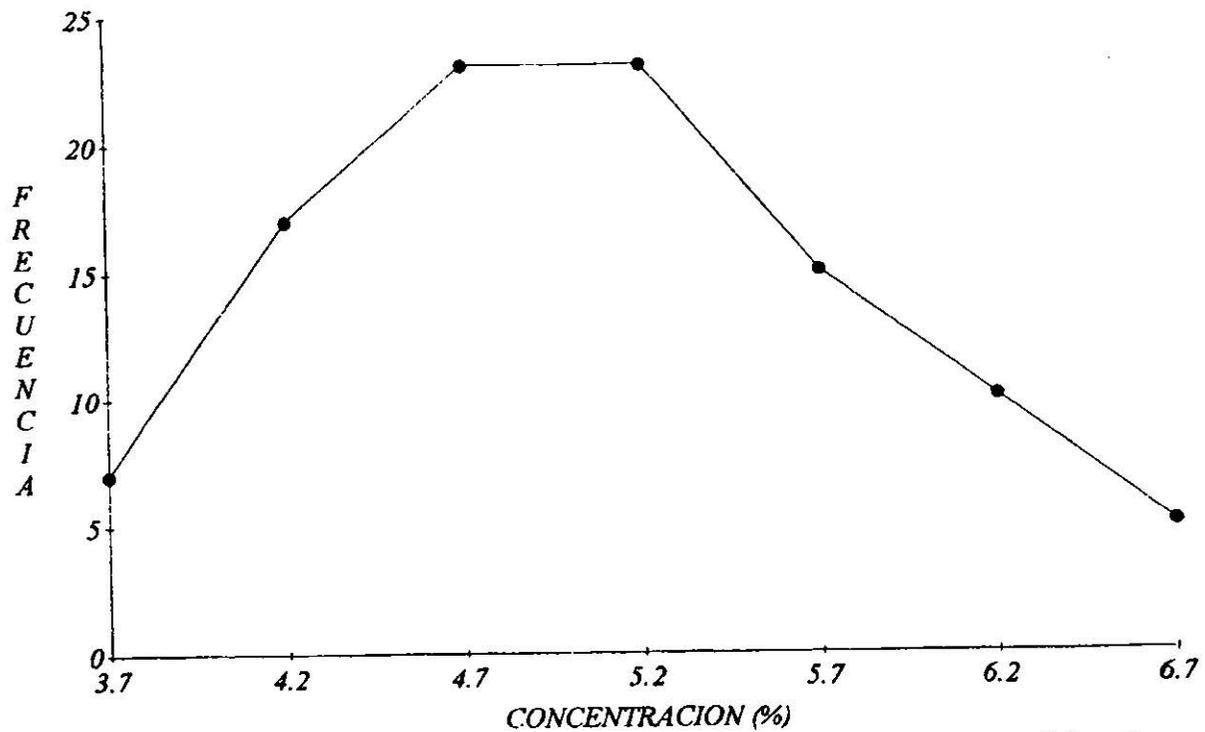
Tabla No. 4 Resultados de glucemia (mg/dl) obtenidos del grupo de mujeres embarazadas para valores de referencia.

No.	Concentración (mg/dl)	No.	Concentración (mg/dl)	No.	Concentración (mg/dl)
01	60.0	36	73.4	70	88.4
02	60.0	37	73.5	71	89.0
03	61.0	38	73.7	72	89.5
04	62.0	39	74.5	73	91.0
05	63.2	40	74.6	74	91.0
06	64.0	41	75.0	75	91.6
07	64.0	42	75.0	76	91.7
08	64.6	43	75.2	77	91.7
09	64.6	44	75.9	78	92.8
10	65.0	45	76.0	79	93.0
11	66.3	46	76.0	80	93.3
12	66.5	47	76.4	81	93.6
13	67.2	48	78.0	82	94.0
14	67.4	49	78.5	83	95.0
15	67.7	50	79.4	84	96.4
16	68.3	51	80.0	85	97.0
17	69.0	52	80.1	86	98.0
18	69.0	53	82.0	87	98.0
19	69.0	54	82.8	88	100.0
20	70.0	55	83.0	89	100.0
21	70.0	56	83.0	90	100.0
22	71.0	57	83.2	91	101.0
23	71.3	58	83.2	92	101.0
24	71.4	59	84.0	93	101.7
25	71.5	60	85.0	94	102.0
26	71.7	61	85.8	95	102.1
27	72.0	62	86.0	96	103.0
28	72.0	63	86.0	97	105.0
29	72.0	64	86.3	98	106.0
30	72.0	65	87.0	99	110.0
31	72.0	66	87.6	100	110.0
32	72.5	67	88.0	101	111.0
33	73.0	68	88.0	102	113.0
34	73.0	69	88.0	103	115.0
35	73.1				

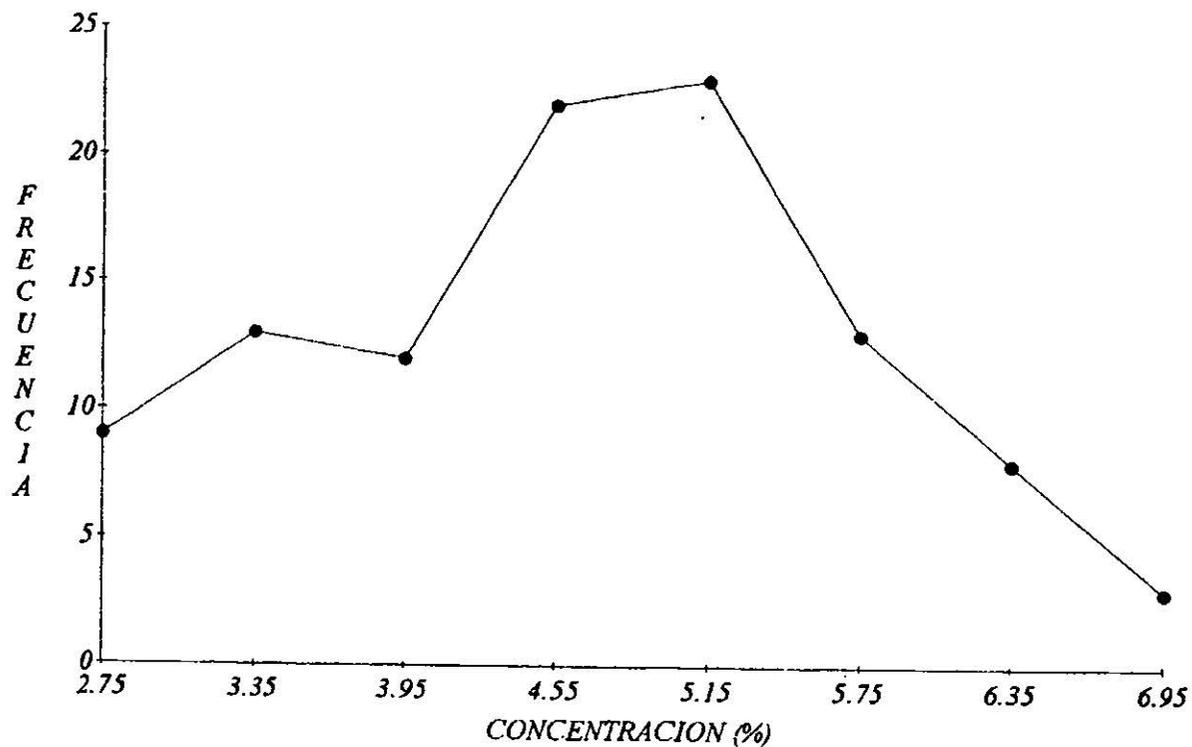
Tabla No. 5. Resultados de los parámetros valorados al grupo de riesgo (mujeres embarazadas diabéticas).

No.	HbA1c (%)	Glucosa (mg/dl)	Microalbuminuria (g/L)
01	12.4	224.0	-
02	10.1	281.0	-
03	7.1	70.5	-
04	5.0	83.0	-
05	14.3	320.0	-
	10.3*	156.0	-
06	12.0	257.0	50.0
	8.3*	139.0	50.0
07	10.0	203.0	50.0
08	12.2	279.0	20.0
	11.5*	195.0	20.0
09	9.6	138.0	10.0
10	9.5	216.0	30.0
11	7.4	140.0	15.0
	7.1*	78.5	15.0
12	9.3	149.0	15.0
	7.3*	79.0	15.0
	8.0*	138.5	20.0

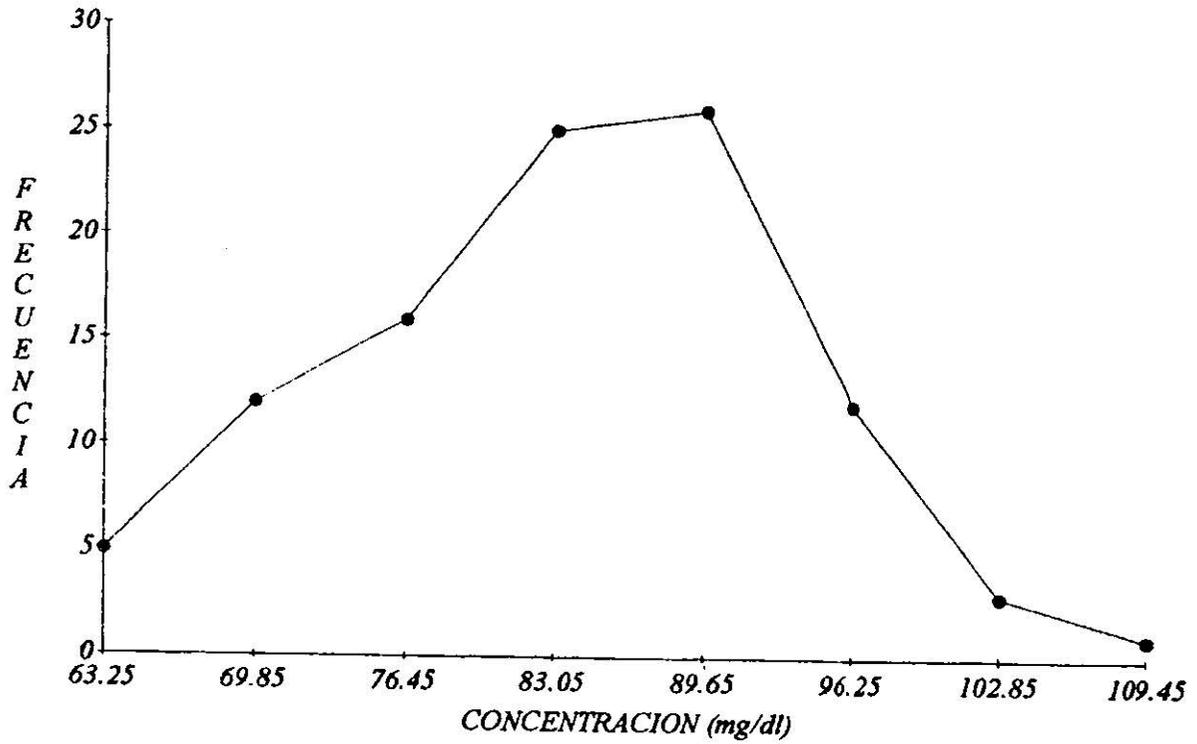
* Muestras tomadas a un mes del primer muestreo.



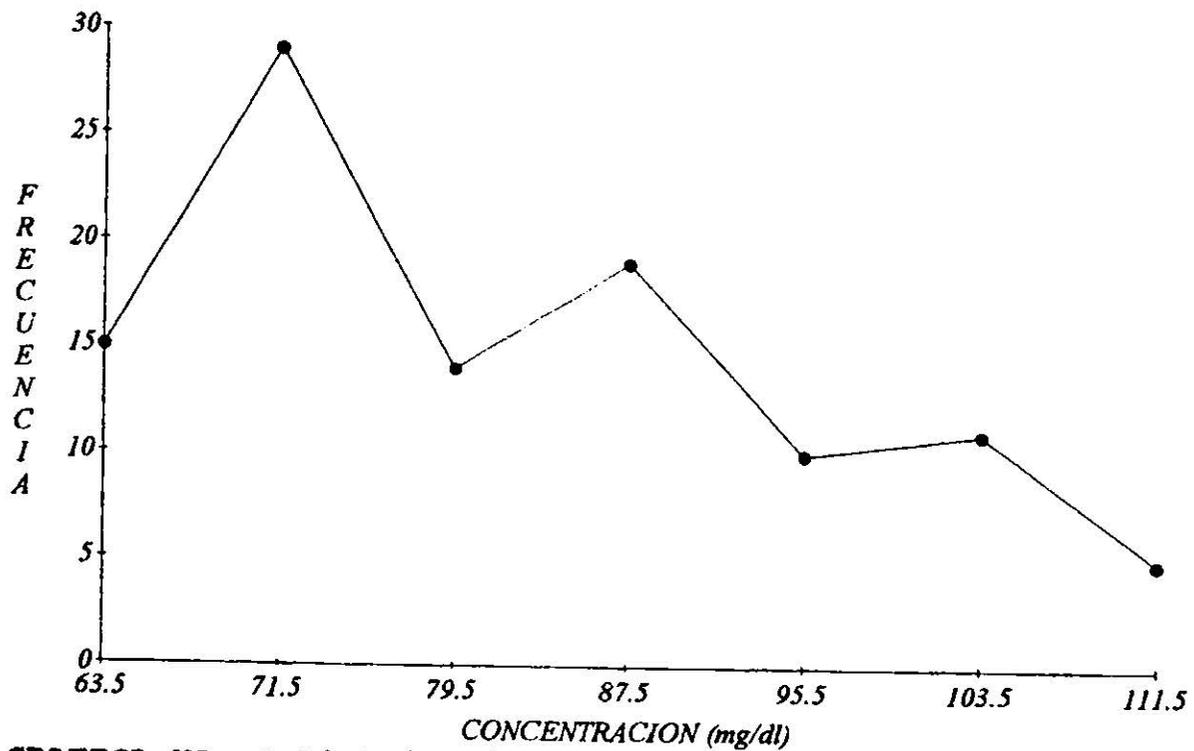
GRAFICA NO. 1 Distribución de la concentración de hemoglobina glucosilada en muestras de sangre total de una población de hombres y mujeres de la Cd. de San Luis Potosí, Mex.



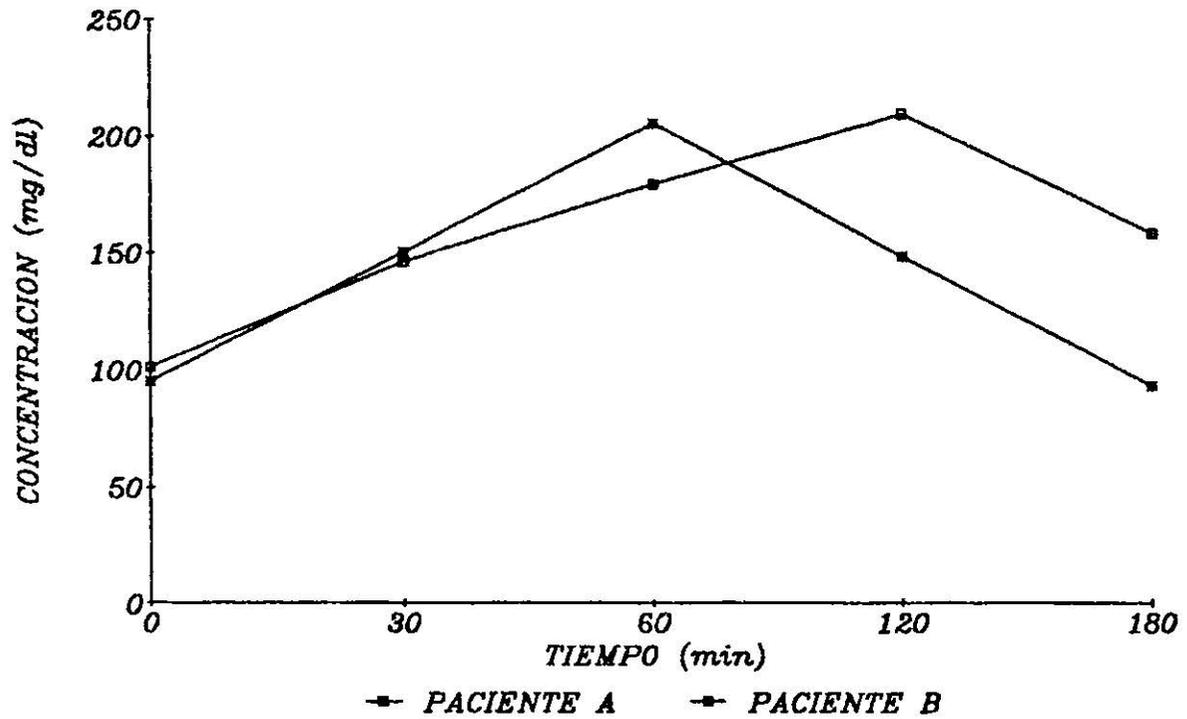
GRAFICA NO. 2 Distribución de la concentración de hemoglobina glucosilada en muestras de sangre total de una población de mujeres embarazadas de la Cd. de San Luis Potosí, Mex.



GRAFICA NO. 3 Distribución de la concentración de glucosa (mg/dl) en muestras de suero de una población de hombres y mujeres de la Cd. de San Luis Potosí, Mex.



GRAFICA NO. 4 Distribución de la concentración de glucosa (mg/dl) en muestras de suero de mujeres embarazadas de la Cd. de San Luis Potosí, Mex.



GRAFICA NO. 5 Curva de tolerancia a la glucosa (mg/dl) de la paciente A y B durante el embarazo, a partir de una carga oral de dextrosa, durante tres horas.

Tabla No. 6 Estimación de la X, D.E, C.V y los percentiles 10 y 90 para HbA1c y glucosa n una población de hombres y mujeres de la Cd. de San Luis Potosí, Méx. de 15 a 45 años.

HbA1c						
Concentración					Percentiles	
(%)	n	X	D.E	C.V(%)	10	90
3.5 - 3.9	07	3.71	0.09	2.42	3.56	3.85
4.0 - 4.4	17	4.18	0.17	4.06	4.39	4.46
4.5 - 4.9	23	4.68	0.13	2.77	4.46	4.89
5.0 - 5.4	23	5.10	0.15	2.94	4.85	5.34
5.5 - 5.9	15	5.70	0.14	2.45	5.46	5.93
6.0 - 6.4	10	6.21	0.18	2.89	5.91	6.50
6.5 - 6.9	05	6.56	0.05	0.76	6.47	6.64

GLUCOSA						
Concentración					Percentiles	
(mg/dl)	n	X	D.E	C.V(%)	10	90
60.0 - 66.5	05	62.82	2.69	4.28	58.38	67.25
66.6 - 73.1	12	71.75	0.87	1.21	70.31	73.18
73.2 - 79.7	16	77.54	1.70	2.19	74.73	80.34
79.8 - 86.3	25	84.08	1.84	2.18	81.04	87.11
86.4 - 92.9	26	90.01	2.02	2.24	86.67	93.34
93.0 - 99.5	12	95.45	2.15	2.25	91.90	98.99
99.6 - 106.1	03	101.66	1.15	1.13	99.76	103.55
106.2 - 112.	01	-	-	-	-	-

Tabla No. 7 Estimación de la X, D.E, C.V y los percentiles 10 y 90 para HbA1c y glucosa en mujeres de la Cd. de San Luis Potosí, Mex. durante el embarazo, de 15 a 45 años.

HbA1c						
Concentración					Percentiles	
(%)	n	X	D.E	C.V (%)	10	90
2.5 - 3.0	09	2.88	0.10	3.47	2.71	3.04
3.1 - 3.6	13	3.36	0.16	4.76	3.09	3.62
3.7 - 4.2	12	3.95	0.14	3.54	3.71	4.18
4.3 - 4.8	22	4.58	0.15	3.27	4.33	4.82
4.9 - 5.4	23	5.13	0.19	3.70	4.81	5.44
5.5 - 6.0	13	6.35	0.20	3.14	6.02	6.68
6.7 - 7.2	03	6.83	0.11	1.61	6.64	7.01

GLUCOSA						
Concentración					Percentiles	
(mg/dl)	n	X	D.E	C.V (%)	10	90
60.0 - 67.0	15	64.23	2.58	4.02	59.97	68.48
68.0 - 75.0	29	72.22	2.03	2.81	68.87	75.56
76.0 - 83.0	14	80.11	2.79	3.48	75.50	84.71
84.0 - 91.0	19	88.18	2.39	2.71	84.23	92.12
92.0 - 99.0	10	95.11	2.06	2.16	91.71	98.50
100.0 - 107.0	11	101.98	2.00	1.96	98.68	105.28
108.0 - 115.0	05	111.8	2.16	1.93	108.23	115.36

Cuadro No. 2 Comparación de los resultados estadísticos para el parámetro de la HbA1c (%) en los grupos para valores de referencia estudiados.

GRUPO	n	X	D.E	C.V	E.E
Gestacional	103	4.7 *	1.0	22.4	0.098
Normal	100	5.0	0.78	15.6	0.078

*P < 0.05 Comparado con los normales.

Cuadro No. 3 Comparación de los resultados estadísticos para el parámetro de la Glucosa (mg/dl) en los grupos para valores de referencia estudiados.

GRUPO	n	X	D.E	C.V	E.E
				(%)	
Gestacional	103	82.4 *	13.7	16.7	1.35
Normal	100	84.2	9.6	11.4	0.96

*P > 0.05 Comparado con los normales

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS VALORES OBTENIDOS PARA GLUCOSA Y HEMOGLOBINA GLUCOSILADA.

ETAPA 1

Con los datos de concentración obtenidos de 103 mujeres embarazadas y 100 hombres y mujeres, se construyeron los intervalos de clase como lo indica la Ley de Sturges (51), con una amplitud de intervalo de 7 para la glucosa y de 0.5 para la hemoglobina glucosilada en el grupo de embarazadas. En el segundo grupo poblacional la amplitud de intervalo fué de 6.5 para la glucosa y de 0.4 para la hemoglobina glucosilada. Posteriormente se construyeron las graficas correspondientes (Gráfica No. 1, 2, 3, 4), en el eje de las abcisas se muestra los puntos medio de cada intervalo de concentración y en el eje de las ordenadas se muestra la frecuencia o número de casos.

ETAPA 2

En esta etapa se aplicaron los métodos estadísticos para el procesamiento de los datos, realizandose en dos fases:

En la primera fase, se utilizaron métodos estadísticos paramétricos para calcular las medidas de tendencia central (media) y de dispersión (coeficiente de variación, desviación estándar), así como la prueba " t " de Student (51) para juzgar cambios significativos entre grupos con distribución Gaussiana.

En la segunda fase, se emplearon métodos estadísticos no paramétricos como la prueba U de Mann-Whitney (43) para juzgar los cambios significativos entre grupos con distribución Gaussiana. Para obtener los valores de referencia se utilizó la formula X^+ (percentil x D.E) tomando en cuenta el percentil 90 (43), dichos valores se muestran en el cuadro No. 4.

Cuadro No. 4 Valores de referencia obtenidos para hemoglobina glucosilada (HbA1c) y glucosa.

GRUPO	HbA1c	Glucosa	
Hombres y mujeres	3.7 - 6.30 %	68.4- 100.0 mg/dl	
Mujeres embarazadas	3.0 - 6.35 %	64.3- 105.0 mg/dl	

DISCUSION

La determinación de un intervalo de referencia, necesariamente pasa por la evaluación de la distribución de los valores de referencia y la identificación de valores aberrantes que generalmente corresponden a valores marginales, alejados claramente del conjunto. Para Solberg (45), la inspección visual de la distribución es un método confiable para identificarlos, también se postula, sin embargo, que el uso de métodos estadísticos puede ser útil para tomar la decisión de incluir o eliminar dichos valores.

Con los resultados obtenidos de cada uno de los parámetros valorados, a cada grupo se le realizó un estudio estadístico. La distribución de la glucosa en el grupo de embarazadas normales (Gráfica No. 2) es de tipo no Gaussiana, debido esto quizá a que la población que se tomo en cuenta abarcaba desde las primeras semanas de la gestación hasta finales de la misma, siendo esta tal vez una variante para que la distribución no fuera normal, sin embargo son datos confiables ya que nos refleja la concentración real que se puede encontrar en este período. Para el caso de la hemoglobina glucosilada (Gráfica No. 4) en el grupo de mujeres embarazadas se observa una distribución de tipo Gaussiana, atribuyéndose a que en la determinación de este parámetro no se refleja variantes instantáneas como en la glucosa. En lo que respecta al grupo de hombres y mujeres clínicamente sanos se observa una distribución Gaussiana para ambos parámetros (Gráfica No. 1, 3).

Al hacer una comparación estadística entre grupos, para el parámetro de la glucosa (Cuadro No. 2) fué necesario utilizar pruebas no paramétricas debido a que el grupo gestacional presentaba una distribución no Gaussiana, razón por la cual no se utilizó la prueba " t " Student, procediéndose a una evaluación de la prueba U de Mann-Whitney, con la cual se obtuvo una significancia de ($P > 0.05$).

En el caso de la hemoglobina glucosilada (Cuadro No. 3) se obtuvo una distribución Gaussiana por lo que se utilizó la prueba " t " Student con la que se obtuvo una significancia de ($P < 0.05$), permitiéndonos de esta manera confirmar la diferencia estadísticamente significativa y la probabilidad de acierto de los resultados.

Para establecer valores de referencia se procedio a utilizar medidas paramétricas (percentiles), utilizando la formula $X \pm (\text{percentil} \times D.E)$, tomando en cuenta el percentil 90 y el 10. Determinando de esta manera que no fué difícil establecer valores de referencia para hemoglobina glucosilada, ya que este parámetro se marca durante la vida media del eritrocito y por consiguiente no sufre modificaciones en el transcurso de este período. De tal manera que los valores obtenidos de las mujeres embarazadas diabéticas en este medio, sí pueden referirse a estos valores obtenidos.

Los rangos de referencia obtenidos se encuentran más reducidos, que los reportados por la literatura Internacional (70.0 - 120.0 mg/dl) (49) para el caso de la glucosa, sin embargo son datos confiables ya que abarcan un grupo especial de estudio, así como un cierto rango de edad (15 a 45 años). Sin embargo para el parámetro de la hemoglobina glucosilada, al hacer una comparación con los reportados por Little y col. (19) se encontró un rango de referencia un poco similar al obtenido en el grupo de hombres y mujeres clínicamente sanos.

En el monitoreo de pacientes diabéticas los resultados carecen de validez estadísticamente significativa, debido a que fué un número pequeño (12 pacientes) sin embargo los resultados obtenidos fueron importantes, porque se pudo comprobar la frecuencia de abortos espontáneos que mencionan otros investigadores (25) en este grupo de riesgo, comprobándose también un inicio de daño renal en este tipo de pacientes, demostrado con la valoración de microalbuminuria. El grupo de riesgo también incluye a pacientes que durante el embarazo presentan una intolerancia a la glucosa, lo cuál también se pudo observar en este estudio con la realización de curvas de tolerancia a la glucosa. A esta intolerancia durante esta etapa se le denomina diabetes gestacional, la cual puede desaparecer al final del período de gestación, pero queda el riesgo de que este tipo de pacientes en un futuro no muy lejano desarrollen una diabetes clínica.

CONCLUSIONES

1. En el transcurso del trabajo realizado se comprobó lo que diversos investigadores han mencionado, que la valoración de hemoglobina glucosilada es útil parámetro de monitoreo del grado de compensación del paciente diabético, debido a que es un marcador metabólico.
2. Los valores de referencia obtenidos para hemoglobina glucosilada son los siguientes:

GRUPO	Hemoglobina glucosilada
Hombres y mujeres	3.7 - 6.30 %
Mujeres embarazadas	3.0 - 6.35 %

3. En base al estudio estadístico se puede asegurar que se cumplió con el objetivo planteado de establecer valores de referencia para hemoglobina glucosilada en dos grupos poblacionales, uno de hombres y mujeres clínicamente sanos y un segundo grupo de mujeres embarazadas no diabéticas tomando en cuenta población de los tres trimestres del embarazo, en la Ciudad de San Luis Potosí Mex.
4. De la misma manera se logro obtener los valores de referencia para el parámetro de la glucosa:

GRUPO	Glucosa
Hombres y mujeres	68.4- 100.0 mg/dl
Mujeres embarazadas	64.3- 105.0 mg/dl

5. El seguimiento de mujeres embarazadas diabéticas (12 pacientes) no se logró concluir debido a que fué una población con un número muy pequeño. Y también debido a la indisciplina del paciente diabético, ya que en este medio se hace más notoria por la falta de educación, o quizá debido a factores psicosociales, alterando también el seguimiento los abortos espontáneos (4 casos) en este tipo de pacientes.
6. Es muy frecuente en mujeres embarazadas desarrollar cierta morbilidad al metabolismo de los carbohidratos, que se traduce en una intolerancia a la glucosa y posteriormente puede o no desarrollar una diabetes gestacional, por lo que es importante la detección de estos pacientes para así llevar un mejor control durante esta etapa fisiológica.

ABREVIATURAS

1.- C.V	Coeficiente de variación
2.- D.E	Desviación estándar
3.- DMID	Diabetes Mellitus Insulinodependiente
4.- DMNID	Diabetes Mellitus No Insulinodependiente
5.- E.E	Error estándar
6.- GNDD	Grupo Nacional de Datos Sobre Diabetes
7.- Hb	Hemoglobina
8.- HbA1c	Hemoglobina glucosilada
9.- HLA	Human Leukocyte Antigens
10.- P	Probabilidad
11.- OMS	Organización Mundial de la Salud
12.- X	Media

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baynes JW., Munnier VM eds. "The Maillard reaction in ageing, diabetes and nutrition". En: Progress in Clinical and Biological Research vol. 34 New York, Alan. Liss Inc. (1989).
- 2.- Betton. D.; Chretien. P.; Matray. F. Ann. Biol. Clin. vol 38, pp. 375-377 (1980).
- 3.- Bolli G., Cartechin MG, Compagnuci P., De Feo P., Santeusanio F., Brunetti P. "Kinetic Behaviour of the glucose-hemoglobin labile adduct in normal and diabetic erythrocytes". Diab. Metab. vol 8, pp.21-27 (1982).
- 4.- Bolli G., Compagnucci P., Cartechini MG., De Feo P., Santeusanio F., Brunetti P., "Analysis of short-term changes in reversibly and irreversibly glycosylated hemoglobin A relevance to diabetes mellitus" Diabetología. vol 21, pp. 70-72 (1981).
- 5.- Browlee M. Cerami A. and Vlassara H. "Advanced products of noenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular Disease". Diabetes/Metabolismo,Reviews. vol IV. No. 5. pp. 437-451 (1988).
- 6.- Carrington E.R "Diabetes en la gestación". Clin Obstet Gynecol. Edit. Interamericana. pp. 28 (1973).
- 7.- Casadevall S. F. "Determinación específica de la hemoglobina A1c por cromatografía en columna". Análisis Clínicos. vol. VIII no. 27 pp. 133-135 (1983).
- 8.- Compagnucci P., Cartechini MG., Bolli G., De Feo P., Santeusanio F., Brunetti P. "The importance of determining irreversibly glycosylated haemoglobin in diabetics". Diabetes vol 30. pp. 607-612 (1981).
- 9.- Davidson I., Henry J.B., "Diagnóstico clínico por el laboratorio" 6a. Edición Edit. Salvat. pp. 211 (1979).
- 10.- Dybkar R. y Solberg HE. "Recomendación aprobada (1987) sobre la teoría de valores de referencia parte VI. Presentación de los valores observados relacionados con los valores de referencia. Comité científico. Sección clínica. Federación Internacional de Química Clínica". Act. Bioq. Clin. Lat. vol. 22, pp. 613-621 (1988).
- 11.- Eli Lilly and Company " Como controlar su diabetes". pp. 5-12 (1990).

- 12.- Ferrell R.E., Hanis C. L., Aguilar L., Tulloch B., García C. and Schull W. J. "Glycated hemoglobin determination from capillary blood samples" Utility in an Epidemiologic survey of diabetes. American Journal of Epidemiology . vol 119, No. 2 pp. 159-166 (1984).
- 13.- Gagliardino J.J., Rebolledo O.R., "Glucosilación no enzimática de proteínas y complicaciones crónicas de la diabetes" Diabetes Mellitus Complicaciones crónica. 1a. Edición. Edit. Interamericana. Cap. 8. pp. 59-67 (1992).
- 14.- Gariaux J.P., "Mouvement biologique de la HbA1" La. Med. Infant. vol. 85 pp. (1979).
- 15.- Herrera E. "Bioquímica Aspectos Estructurales y vías metabólicas" 2a. Edición. Edit. Interamericana. vol. II. pp. 1325-26 (1993).
- 16.- Hueso J., Rico J., Pérez-Sandoval D., Juaches A. "Estudio de la hemoglobina glucosilada en la insuficiencia renal crónica y en las anemias ferropénica y secundaria". Rev. Diag. Biol. vol. 34, pp. 115-120 (1985).
- 17.- Jiménez C. M. "Glucohemoglobina". Tesis profesional de Licenciatura de Q.F.B (1980).
- 18.- Krishnamoorthy R., Gacon G., and Labie D. "Isolation and partial characterization of hemoglobin A1b". FEEBS Letters vol. 77 pp. 99-102 (1977).
- 19.- Little R. R., England J. D., Wiedmeyer H., McKenzie E.M., Pettitt D.J., Knowleer W. C., and Goldstein D.E. "Relationship of glycosylated hemoglobin to oral glucose tolerance". Implications for Diabetes Screening. Diabetes vol. 37 pp. 60-64 (1988).
- 20.- López S.S. "Valores de referencia para Glucosa, Urea, Creatinina, Ac. Úrico, Hemoglobina, Hematocrito en una población adulta". Bioquímica vol. 16 No. 4 pp. 22-26 (1991).
- 21.- Lynch, Raphael, Mellor, Spare e Inwood "Métodos de laboratorio". Edit. Interamericana pp. 442-43 (1977).
- 22.- Mariel, Petty, Audrex D., Bell-Farrow, Camille B., Izcar, Frand, Kingler and William T, Cefalu. "Glycated hemoglobin by Automated Affinity high-performance liquid chromatography". Diabetes: A Journal of the American Diabetes Association vol. 40 supplement 1, pp. 402A (1991).
- 23.- McDonald M., Shapiro P., Bleichman J., Solwar J., Bunn F. "Glycosilated minor components of humans adult hemoglobin". Biol. Chem. vol 252 pp. 2327-2332 (1978).
- 24.- Medical. Edición Mexicana vol. 3 No. 21 pp. 43 (1992).

- 25.- Miodovnik M. M.D., Skillman C. Ph. D., Holroyde J.C., B.S., Butter J. B. M.D., Wendel J.S., M.D., and Siddiqi T.A., M.D.. "Elevated maternal glycohemoglobin in early pregnancy and spontaneous abortion among insulin-dependent diabetic women". Am. J. Obstet. Gynecol. pp 439-42. October 15, (1985).
- 26.- Nathan BM. "Labile glycosylated hemoglobin contributes to hemoglobin A1 as measured by liquid chromatography or electroforesis". Clin. Chem. vol. 27 pp. 1261-1263 (1981).
- 27.- Otero D.G, Sterling T., García M.V. Hemoglobinas glucosiladas : nuevo método para su determinación. Rev. Diag. Biol. vol. 28, pp. 275.280 (1979).
- 28.- Pallardo S. L.F. "Diabetes y Embarazo" Boehringer Mannheim S.A pp. 139-143 (1984).
- 29.- Paricio P. A., Carrasco C. P. "Hemoglobinas glucosiladas y control del diabético ambulatorio". Análisis clínicos vol. VIII, No. 32 pp 177-185 (1983).
- 30.- Pettit D.J., Knowler W.C., Baird HIR y Bennet P.H. Diabetes gestacional: "Infant and maternal complications of pregnancy in relation to third trimester glucosa tolerance in the Pima Indios". Diabetes Care vol. 3 pp. 458 (1980).
- 31.- PettitClerc C. y Solberg HE. "Recomendación aprobada (1987) sobre la teoría de valores de referencia Parte II. Selección de individuos para la producción de valores de referencia. Comité científico. Sección clínica". Act. Bioq. Clin. Lat. vol. 22 pp. 443-457 (1988).
- 32.- Philip K.B, Leon E.R. Enfermedades del metabolismo Tomo I. Génética y Metabolismo. Edit. Salvat. pp. 75, (1979).
- 33.- Queralto JM, et al. "Variaciones analíticas y extraanalíticas en la producción de los valores de referencia". Química clínica vol. 3 (1), pp. 43-50 (1984).
- 34.- Quibrera R., García M. "Páncreas endocrino" Fundamentos de endocrinología clínica. Edit. Salvat. 4a. Edición. pp 485-540 (1990).
- 35.- Quibrera R., Hernández H.G., Aradillas C., González S., Calles-Escandon J. Prevalencia de la Diabetes Mellitus, Intolerancia a la Glucosa, Hiperlipemia y Factores de riesgo en función de nivel socioeconómico. Rev Invest Clin vol. 46 pp 25-36 (1994).
- 36.- Rahbar S. "An abnormal hemoglobin in red cells of diabetic". Clin. Chim. Acta. No.22, pp 296-8, (1968).
- 37.- Rahbar S., Blumenteld O., Ranner H.M "Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus" Biochem. Biophys Res Commun. vol. 36 pp 838-43 (1969).

- 38.- Reynals B. E., Aguilar B. J. L., Figueroa I. D. "Estudio comparativo de tres métodos de determinación de HbA1: ventajas e inconvenientes en un medio hospitalario". Rev. Diag. Biol. vol 34 pp. 105-114 (1985).
- 39.- Rios S. M., López G. M.D., "Epidemiología de la diabetes insulino dependiente". Diabetes mellitus complicaciones crónicas. 1a. Edición Edit. Interamericana. pp. 17-28. (1992).
- 40.- Rios T. J.M., Rull R. J. A. "El síndrome clínico de diabetes mellitus". Diabetes Mellitus complicaciones crónicas. 1a. Edición. Edit. Interamericana. pp. 3-16 (1992).
- 41.- Rose N. R. "Enfermedades endocrinas". Inmunología clínica. 3a. Edición Edit. El manual moderno. pp.667-69. (1982).
- 42.- Schifreen R.S.; Hickingbotham. J.M. Bowers. G. N. Clin. Chem. vol. 26 pp. 466-472 (1980).
- 43.- Sidney. Singel. "Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta". Edit. Trillas. pp.143-154. (1979).
- 44.- Serrano-Rios M., Muy C.S., Martín, Serrano R. y col. "Incidence of tipe I (insulin-dependent) diabetes mellitus in subjects 0-14 years of age in the comunidad of Madrid Spain". Diabetologia vol 33, pp. 442-45 (1990).
- 45.- Solberg HE. "Recomendación aprobada (1987) sobre la teoría de valores de referencia Parte V. Tratamiento de los valores de referencia obtenidos. Determinación de límites de referencia. Comité científico. Sección clínica. Federación Interamericana de Química clínica". Act. Bioq. Clin. Lat. vol. 22 pp. 297-303 (1988).
- 46.- Solberg HE. "Recomendación aprobada (1986) sobre la teoría de valores de referencia Parte I. Concepto de los valores de referencia. Comité científico. Sección clínica. Federación Internacional de Química clínica". Act. Bioq. Clin. Lat. vol. 22 pp. 297-303 (1988).
- 47.- Solberg HE. y PettitClerc C. "Recomendación aprobada (1988) sobre la teoría de valores de referencia parte III. Preparación de individuos y obtención de especímenes para la producción de valores de referencia. Comité científico. Sección clínica. Federación Internacional de Química clínica". Act. Bioq. Clin. Lat. vol. 22 pp. 603-611 (1988).
- 48.- Suendsen P.A., Christiansen J.J., Joergaard U., Welinder B.S., Nerup L. "Rapid changes in chromatographically determined hemoglobin A1c induced by short-term changes in glucose concentration". Diabetologia vol 19 pp. 130-136 (1980).
- 49.- Trinder, P. Ann. Clin. Biochem G. 6 . 24 (1969).

- 50.- Trivelli L.A., Ranneg H.M., and Hang-Tien I. "Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus". N. Enge. J. Med. pp. 284-353 (1971).
- 51.- Wayne W. D. "Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud" 3a. Edición Edit. Limusa . pp. 23-44, 117-120, 221-26. (1993).

