

UNIVERSIDAD DE SONORA

UNIDAD REGIONAL NORTE

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

**“Hemoglobina Glicosilada como Índice de
Control de Pacientes Diabéticos”**

TODO·LO·ILUMINAN

T E S I S

Para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO
Opción Análisis Clínicos

Presenta

LENNIA MARGARITA HAROS GAMEZ

H. Caborca, Sonora.

Noviembre del 2007

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess



UNIVERSIDAD DE SONORA

APROBACIÓN DEL JURADO De la tesis presentada por

Lennia Margarita Haros Gamez

Esta tesis ha sido revisada por cada uno de los miembros del jurado, quienes la han encontrado satisfactoria.

M.C. Eligio Espinoza Ojeda
Presidente

M.C. José Jesús García Nogales
Secretario

M.C. Maria del Carmen García Moraga
Vocal

AGRADECIMIENTOS

Hace cinco años que empecé a estudiar mi carrera y a lo largo de todo este tiempo he tenido personas que han estado a mi lado, apoyándome de una o de otra manera para que lograra mi objetivo. Personas sin las cuales este sueño no se hubiera logrado, pues son piezas básicas en mi desempeño, por lo tanto, creo que es importante reconocer y dar las gracias pues este logro no solo es mío, sino también pertenece a ellos.

Primeramente quiero dar gracias a **Dios**, quien es el que nos da fortaleza en esos momentos de debilidad, en esos momentos en los cuales nos sentimos solos y sin ganas de seguir avanzando, porque es el Ser en que basamos nuestra fe y todas nuestras esperanzas. Gracias señor.

Por supuesto también doy gracias a mis **Padres**, mis pilares, las personas que siempre han estado conmigo, en los buenos momentos y también en los malos, gracias papá, gracias mamá por todo el apoyo que me han brindado.

A mis **hermanas**, que siempre me apoyaron y nunca me dejaron sola, gracias por todas las cosas buenas que me han dado y este logro es tanto mío como de ustedes, porque sin su apoyo me hubiera sido difícil salir adelante.

Gracias **Amor** porque me has apoyado incondicionalmente sin mirar hacia atrás y nunca me dijiste no cuando necesite de tu ayuda.

Gracias a **Eligio** mi director de tesis que tanto me ha ayudado y por supuesto también agradezco a mis asesores **Ma. del Carmen** y **José Jesús** por su apoyo brindado para realizar mi proyecto.

Por último y no menos importantes quiero agradecer a todos mis **maestros**, que sin sus enseñanzas simplemente hoy no estuviéramos culminando nuestros estudios, gracias sobre todo a aquellos maestros que fuera del aula de estudio siguieron enseñándome a ser una mejor persona.

ÍNDICE DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	ii
LISTA DE GRÁFICAS	iv
LISTA DE APÉNDICES	v
OBJETIVOS	vi
Objetivo General.....	vi
Objetivos Específicos.....	vi
JUSTIFICACIÓN	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	x
ANTECEDENTES	1
Epidemiología.....	1
Clasificación de la Diabetes.....	5
Diabetes Mellitus.....	5
Diabetes Mellitus Tipo 1.....	6
Diabetes Mellitus Tipo 2.....	7
Diabetes Gestacional.....	7
Diabetes Insípida.....	8
Criterios para el Diagnóstico de Diabetes.....	9
Diabetes Mellitus Tipo 2 en Adultos Asintomáticos.....	11
Trastornos Metabólicos y Tisulares Asociados a la Diabetes.....	12

Complicaciones Crónicas.	12
Nefropatía Diabética.	12
Retinopatía Diabética.	14
Neuropatía Diabética.	14
Pie Diabético.	14
Complicaciones Agudas.	15
Hipoglicemia.	15
Cetoacidosis Diabética.	16
Tratamientos de la diabetes	16
No Farmacológico	16
Actividad Física.	17
Dieta	17
Farmacológico	17
Hipoglicemiantes Orales.	18
Insulinoterapia.	20
Vigilancia.	21
Hemoglobina y Hemoglobina Glicosilada	21
Glicación de la Hemoglobina.	23
Estructura de la Hemoglobina glicosilada	25
Síntesis de HbA _{1c}	27
Factores que Modifican la Glicosilación no Enzimática	28
Revisión de Métodos	29
Hemoglobina glicosilada	29
Cromatografía de Intercambio Iónico.	29
Glucosa.	30

Glucosa oxidasa	33
Niveles Fisiológicos Normales de HbA _{1c} y Glucosa Basal	34
MATERIALES Y METODOS	35
Metodología.....	35
Criterios de Inclusión.	36
Estandarización de la Técnica	37
Recolección de Muestra.....	37
Técnica de Laboratorio.....	38
RESULTADOS	40
ANÁLISIS DE DATOS	45
CONCLUSIONES	54
APÉNDICE	55
BIBLIOGRAFÍA	63

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de la Hemoglobina.....	22
2	Síntesis de Hemoglobina glicosilada.....	28

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Diabetes mellitus 1 y 2 por grupo de edad y sexo, Sonora, 2006.....	3
2	Casos nuevos de diabetes mellitus en Sonora.....	4
3	Características clínicas de la diabetes tipo 1 y 2 al momento del diagnóstico.....	9
4	Relación de glicemias con HbA _{1c}	24
5	Estructura de la hemoglobina A ₁	26
6	Métodos para el análisis de glucosa.....	32
7	Resultados de Grupo 1.....	40
8	Resultados de Grupo 2.....	41
9	Resultados de Grupo 3.....	42
10	Resultados de Grupo 4.....	43
11	Resultados de Grupo 5.....	44
12	Límites de hemoglobina glicosilada y glucosa sérica..	45
13	Correlación Glucosa-HbA _{1c}	51

14	Comparación de niveles medios de glicemia.....	52
15	Comparación de niveles medios de HbA1c.....	52
16	Comparación medias (t Student) de glicemia y hemoglobina glicosilada.....	53

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Grupo 1. Relación Glicemia-HbA1c.....	46
2	Grupo 2. Relación Glicemia-HbA1c.....	47
3	Grupo 3. Relación Glicemia-HbA1c.....	48
4	Grupo 4. Relación Glicemia-HbA1c.....	49
5	Grupo 5. Relación Glicemia-HbA1c.....	50

LISTA DE APÉNDICES

Apéndice		Página
1	Espectrofotómetro Users Manual.....	55
2	Técnica para determinación de glucosa/oxidasa.....	57
3	Técnica para determinación de hemoglobina glicosilada.....	59
4	Encuesta realizada a pacientes para obtención de datos personales.....	62

OBJETIVOS

Objetivo General

Demostrar, utilizando diferentes grupos de pacientes diabéticos que, para su control, la cuantificación de hemoglobina glicosilada es mejor índice que el de glucosa sérica.

Objetivos Específicos

1. Comparar la calidad del control glicémico, según se use glucosa sérica o el nivel de hemoglobina glicosilada.
2. Determinar si el paciente está siendo bien controlado.
3. Determinar si hay diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los diferentes grupos de diabéticos.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el control de los pacientes diabéticos se lleva a cabo mediante la determinación de glucosa sérica, pero se ha encontrado que no es suficiente ya que puede ser manipulada por el paciente o puede ser que el tratamiento no sea el adecuado. Para evitar dichas fallas y de acuerdo con las organizaciones mundiales de la salud se ha establecido como mejor criterio de control del paciente diabético el uso adicional de la hemoglobina glicosilada.

Una persona que padece de diabetes mellitus que se encuentre bajo tratamiento y buen control, debe de tener relación entre sus niveles de hemoglobina glicosilada y glucosa sérica.

RESUMEN

Se determinaron los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) y glucosa sérica a 64 pacientes con diabetes mellitus tipo 2, separados en cuatro grupos, con el fin de comparar su comportamiento glicemia-HbA_{1c}. En cada caso se hizo clasificación como bueno, regular o mal control en su tratamiento según la Norma Oficial Mexicana. El primer grupo asiste a consulta a Servicios Médicos de Sonora (SEMESON), el segundo grupo asiste al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el tercero es auspiciado por un club de servicio que brinda apoyo a diabéticos mediante pláticas de orientación. El cuarto grupo es de población abierta y acude a diferentes instituciones o a consulta privada. Los cuatro grupos se compararon con un grupo control formado por 15 individuos que no padecen diabetes.

Se hizo un estudio t de Student para comparación de medias de glicemia y de hemoglobina glicosilada entre los grupos de pacientes diabéticos y el grupo control para saber si hay diferencia estadísticamente significativa. En la comparación de medias de glicemia se encontró que no hay diferencia significativa entre el grupo control y los grupos de pacientes diabéticos; mientras que en la comparación de las medias de hemoglobina glicosilada se encuentra que en todos los casos si hubo diferencia. Esto conduce a suponer que los pacientes manipulan sus niveles de glucosa,

pero no pueden hacer lo mismo con sus niveles de hemoglobina glicosilada. Se concluye que la cuantificación de hemoglobina glicosilada es un mejor índice de control para pacientes diabéticos.

INTRODUCCION

La diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico crónico caracterizado por niveles persistentemente elevados de glucosa en la sangre, como consecuencia de una alteración en la secreción y/o acción de la insulina. La DM es una de las patologías que genera mayor discapacidad y mortalidad, especialmente en el adulto y en el adulto mayor, ocupando gran parte de los recursos sanitarios en todos los países¹. De acuerdo con informes de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), el costo indirecto de la diabetes en México en 1991 ascendió a 330 millones de dólares y el costo directo fue de 100 millones de dólares².

La encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000), estimó la prevalencia de 10.9%, esto quiere decir que alrededor de 5.1 millones de personas padecen diabetes con predominio en el sexo femenino (53%) con respecto al masculino (47%). La mortalidad por diabetes ha mostrado un incremento sostenido durante las últimas décadas, pues en el año 2000 se consideraba a la diabetes como la tercera causa de muerte en México, ocupando en los últimos años el primer lugar³. Al mismo tiempo se considera como el motivo más frecuente de amputación de miembros inferiores de origen no traumático y ocasiona complicaciones a los pacientes como retinopatía e insuficiencia renal. Los estilos de vida y los patrones de alimentación que prevalecen entre la población mexicana favorecen una epidemia de obesidad vinculada a esta enfermedad^{3, 4}. Por

entidad federativa la prevalencia mayor se observó en Tamaulipas con 13.8% y Sonora tiene una prevalencia de 10.3% (ENSA 2000/ CNVE / SSA).

La DM tipo 2 (DM2) es caracterizada por resistencia insulínica, que habitualmente se acompaña de un déficit de la misma. Diferentes instituciones tanto públicas como privadas han desarrollado diversas estrategias con el fin de que los pacientes perciban el riesgo a desarrollar enfermedades no transmisibles relacionadas con la diabetes, dentro de estas estrategias destacan: medición de la cintura: señalaron que la circunferencia de cintura >90 cm tanto en hombres como en mujeres es un indicador que predice el riesgo para desarrollar DM2 e hipertensión arterial, entre otras patologías lo cual coincide con otros estudios internacionales⁵.

En la DM2 el resultado de la deficiencia de insulina es la hiperglicemia⁶. Entonces la meta básica en los pacientes diabéticos está en evitar que presenten hiperglicemia⁷⁻⁹. El mantenimiento de los valores normales de glicemia ha demostrado disminución significativa en la aparición de complicaciones tardías^{8, 10}. Sin embargo, es bien conocido que el control glicémico del paciente diabético es muy difícil¹¹. El control glicémico de los pacientes debe estar encaminado a obtener glicemias de ayuno entre 90 y 130 mg/dL y posprandiales (glicemias dos horas después de la comida) menores que 180 mg/dL, así como hemoglobina glicosilada (HbA1c) < 7%¹².

Los valores de glicemias de ayuno y posprandiales son momentáneos y no indican siquiera los niveles de glicemias en las últimas 24 horas, ya que ésta generalmente es fluctuante¹³. Por este motivo la

hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) es la mejor prueba disponible que refleja el control glicémico del paciente diabético¹⁴. Debido a que la HbA_{1c} es la unión no enzimática cetona-amina/aldehído-amina que ocurre entre la hemoglobina y la glucosa durante la vida del eritrocito, esta fracción de la HbA_{1c} corresponde a un pequeño porcentaje de la hemoglobina total de los individuos normales (5%), sin embargo en los enfermos diabéticos se puede incrementar 2 o 3 veces su concentración por esta característica, la HbA_{1c} se ha tomado como un indicador del grado de control en la DM y se ha recomendado como un recurso en la evaluación del paciente diabético¹⁵.

ANTECEDENTES

La prevalencia de la diabetes sigue ascendiendo en todo el mundo. En 1985 se estimó que existían 30 millones de personas con diabetes y para 1995 esta cifra ascendió a 135 millones y para el año 2025 se calcula será de 300 millones aproximadamente. Según la información de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC 1993), se estimó una prevalencia de diabetes de 8.2% en la población mexicana de 20 a 69 años para el año 2000.

Epidemiología

De acuerdo con el Sistema Nacional de información en Salud, para el año 2005 en México hubo un total de 130,231 egresos hospitalarios por causa de diabetes mellitus, en Sonora 3,123 personas egresaron de hospitales por la misma causa, de los cuales 1,492 son hombres y 1,631 mujeres, la edad es otra de las variables importantes a tener en cuenta, pues 45 años, es la edad promedio en ambos sexos a la fecha de dichos egresos.

La mortalidad por diabetes mellitus en el 2005 en México fue de 15,627 y en Sonora fue de 361; de los cuales 155 son del sexo masculino y 206 del femenino siendo las personas de 65 años en adelante las de mayor mortalidad por causa de la diabetes.

Se considera que la diabetes mellitus fue la principal causa de mortalidad hospitalaria en México en el 2005 con un 12.8% con respecto a otras enfermedades¹⁶.

En la actualidad la diabetes es una de las enfermedades que sigue en incremento, presentándose en toda la población, a manera de ejemplo se muestra en las tablas 1 y 2 los casos de diabetes mellitus en Sonora.

Tabla 1. Diabetes mellitus 1 y 2 por grupo de edad y sexo, Sonora 2006.

Grupos de edad	Diabetes Tipo 2		Subtotal	Diabetes Tipo 1		Subtotal	Total
	Femenino	Masculino		Femenino	masculino		
<14	5	3	8	36	10	46	54
15-19	2	4	6	177	113	290	296
20-24	15	9	24	4	2	6	30
25-44	897	454	1,351	34	18	52	1,403
45-49	512	278	790	27	17	44	834
50-59	1,171	672	1,843	33	1	51	1,894
60-64	460	300	760	19	13	32	792
65 y mas	877	646	1,523	36	35	71	1,594
Se ignora	1	1	2	0	0	0	2
Total	3,940	2,367	6,307	366	226	592	6,899

Fuente: S.U.A.V.E (Sistema Único Automatizado para la Vigilancia

Epidemiológica).⁶⁹

Tabla 2. Casos nuevos de diabetes mellitus en Sonora 1995-2005.

Año	Casos Nuevos	Tasa
1995	6,005	28.8
1996	7,465	35.3
1997	8,223	38.2
1998	6,766	31
1999	6,698	30.2
2000	4,447	19.2
2001	5,068	31.8
2001	8,833	35.8
2003	9,272	39.8
2004	11,033	45.2
2005	9,944	42.9

Fuente: S.U.A.V.E tasa por 100 000 habitantes⁶⁹.

Clasificación de la Diabetes

La diabetes es un síndrome muy complejo para el cual es de vital importancia clasificar algunas de sus características puesto que, aunque todas presenten niveles persistentemente elevados de glucosa en la sangre, cada una es mediada por diferentes mecanismos. A continuación, se mencionan algunos de los datos más importantes de dicho síndrome²¹.

Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus no es una enfermedad en el sentido clásico, puesto que carece de una patogenia, así como de una etiología, o un tratamiento curativo o definitivo. Por el contrario, la diabetes mellitus debe de considerarse como un síndrome. Puesto que las alteraciones en el metabolismo de la glucosa han sido las primeras y más fáciles de medir, la principal atención ha sido definir la enfermedad por las medidas en los valores de glucosa¹⁷. En la diabetes mellitus se considera una hiperglicemia inapropiada debido a una deficiencia en la secreción de insulina o la combinación de una resistencia a la insulina y una secreción inadecuada de ésta¹⁸. La carencia de insulina también afecta la utilización adecuada de las grasas y las proteínas lo que significa que las alteraciones metabólicas son profundas¹⁹.

Diabetes Mellitus Tipo 1.

Ésta forma de diabetes es de mediación inmunitaria en más de 90% de los casos, e idiopática en menos de 10%, se le conoce también como diabetes mellitus insulino dependiente. Se presenta principalmente en aquellos pacientes con un defecto de secreción insulínica, por lo que requiere un tratamiento a base de insulina exógena. Generalmente se presenta en personas jóvenes no obesas. Además de glucosuria, polidipsia y poliuria, estos pacientes presentan una notable pérdida de masa corporal. Es frecuente la presencia de elevadas concentraciones de compuestos cetónicos en sangre y orina. En la mayoría de los pacientes recién diagnosticados se detectan anticuerpos contra las células de los islotes, si bien en la mayoría de ellos desaparece al cabo de un año. En ocasiones, los anticuerpos son detectados antes de que aparezcan los primeros signos.

Una buena parte de los trastornos asociados a este tipo de diabetes son debidos a la falta de penetración de la glucosa en el espacio intracelular a causa de la falta de insulina que estimule el proceso. Este déficit de glucosa intracelular es interpretado por el organismo como si se tratara de un estado de hipoglucemia, lo que desencadena la liberación de hormonas hiperglicemiantes como el glucagón, la corticotropina y la somatotropina, entre otras. La acción estimuladora de estas hormonas no es contrarrestada por la acción inhibitoria de la insulina sobre la gluconeogénesis hepática y muscular, y como consecuencia se produce un notable aumento de la concentración de glucosa en el plasma²⁰.

Diabetes Mellitus Tipo 2.

A este tipo de diabetes también se le conoce como diabetes mellitus no insulino dependiente o diabetes del adulto. La diabetes tipo 2 representa entre el 90% y el 95% de todos los casos diagnosticados de diabetes. Lo característico de estos pacientes es la capacidad para sobrevivir sin desarrollar cetoacidosis debido a que la insulina endógena circulante es suficiente para evitar dicha cetoacidosis, pero inadecuada para evitar la hiperglicemia frente al incremento de las necesidades debido a la insensibilidad tisular. En la mayor parte de los casos de esta diabetes se desconoce la causa.

La insensibilidad tisular a la insulina se observa en la mayoría de los pacientes tipo 2, cualquiera que sea su peso, y se ha atribuido a diversos factores interrelacionados. Estos incluyen un presunto (y hasta el momento indefinido) factor genético, el envejecimiento, una vida sedentaria y la obesidad. Adicionalmente, hay una deficiencia concomitante en la respuesta de las células β pancreáticas a la glucosa. La resistencia tisular a la insulina y en el deterioro de la respuesta de la célula β a la glucosa, parecen agravarse más por la hiperglicemia y ambos defectos se aminoran con el tratamiento que reduce la hiperglicemia hacia la normalidad¹⁸.

Diabetes Gestacional.

Según la ADA es una forma de intolerancia a la glucosa que se diagnostica a algunas mujeres durante el embarazo. Esta se manifiesta con mayor frecuencia en afroamericanos, hispanos/latinos,

estadounidenses e indios americanos. También es más común en mujeres obesas y en mujeres con antecedentes familiares de diabetes. Durante el embarazo la diabetes gestacional requiere de un tratamiento para normalizar los niveles de glucosa en la sangre de la madre, con el fin de evitar complicaciones en el bebé. Luego del embarazo entre el 5% y el 10% de las mujeres que tuvieron diabetes gestacional desarrollan diabetes tipo 2.

Diabetes Insípida.

Es un trastorno crónico de la hipófisis o del hipotálamo debido a la deficiencia de vasopresina, hormona antidiurética (ADH) que normalmente ejerce el control en los túbulos contorneados distales y colectores del riñón en la resorción del agua. La secreción de la ADH depende del lóbulo posterior de la hipófisis, que puede ser afectado por traumas craneales, meningitis, tumores o ser perfectamente idiopática. Hay una poliuria muy marcada, como consecuencia de la polidipsia con cantidades que pueden llegar hasta los 20 litros al día.

Es una orina casi incolora, con una densidad muy baja, entre 1.001 a 1.005, ausencia de glucosa y de albúmina y con sedimento muy limpio²¹.

Aunque se presenten diferentes tipos de diabetes las más comunes y de mayor importancia es la diabetes tipo 1 y 2. A continuación se describe en la tabla 3 las características que presenta un paciente al momento del diagnóstico de diabetes.

Tabla 3. Características clínicas de la diabetes tipo 1 y 2 al momento del diagnóstico

	Diabetes tipo 1	Diabetes tipo 2
Poliuria y sed	++	+
Debilidad o fatiga	++	+
Polifagia con pérdida de peso	++	-
Visión borrosa recidivante	+	++
Vulvovaginitis o prurito	+	++
Neuropatía periférica	+	++
Enuresis nocturna	++	-
A menudo asintomática	-	++

Fuente: Lawrence M. 2006.

Criterios para el Diagnóstico de Diabetes

- Glicemia en cualquier momento del día ≥ 200 mg/dL en presencia de síntomas de la diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia).
- Glicemia en ayunas (al menos durante 8 horas) ≥ 126 mg/dL.
- Glicemia ≥ 200 mg/dL a las dos horas posterior a una sobrecarga oral con 75 grs. de glucosa (test realizado según los criterios de la OMS)

En las últimas dos opciones es necesario comprobar el diagnóstico con una nueva determinación de glicemia en ayunas o sobrecarga oral con 75 grs. de glucosa.

Cuando los niveles de glicemia de un paciente se encuentran alterados pero no alcanzan las cifras diagnósticas de diabetes, este se clasifica en:

- Intolerancia a la glucosa de ayunas:
- Glicemia en ayunas ≥ 100 mg/dL y < 126 mg/dL, en 2 días diferentes.
- Intolerancia a la glucosa:
- Glicemia a las dos horas post carga de 75 grs. de glucosa ≥ 140 mg/dL y < 200 mg/dL, en 2 días diferentes.

Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO): Determinación de una glicemia en ayunas y a las dos horas post carga de 75 grs. de glucosa, disueltos en 250 cc de agua fría, o 1.75 grs. de glucosa/kg de peso en niños, hasta un máximo de 75 grs.

Criterios diagnósticos con Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral:

- Glicemia 2 h post carga < 140 mg/dL: Tolerancia normal a la glucosa.

- Glicemia 2 h post carga 140-199 mg/dL: Intolerancia a la glucosa.
- Glicemia 2 h post carga ≥ 200 mg/dL: Diabetes

El hallazgo aislado de cualquiera de estos criterios no es suficiente para establecer el diagnóstico. Debe confirmarse en días posteriores con el mismo criterio o con alguno de ellos para establecer el diagnóstico de diabetes mellitus.^{1, 22-26.}

Diabetes Mellitus Tipo 2 en Adultos Asintomáticos

1. Todos los individuos con 45 años de edad o más deberán ser considerados para la prueba de detección de diabetes; si la prueba es normal deberá repetirse cada 3 años.
2. La prueba deberá realizarse con mas frecuencia a partir de los 30 años de edad a individuos con:
 - Antecedentes de familiares en primer grado con diabetes.
 - Sobrepeso u obesidad (índice de masa corporal ≥ 25)
 - Hipertensión arterial (cifras de presión arterial $\geq 140/90$ mm Hg)
 - Niveles de colesterol > 200 mg/dL (lipoproteínas de alta densidad ≤ 35 mg/dL)
 - Triglicéridos ≥ 250 mg/dL
 - Una prueba positiva de tamizaje (glicemia capilar > 120 mg/dL)²⁷

Trastornos Metabólicos y Tisulares Asociados a la Diabetes

Debido al desorden en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas se presentan múltiples trastornos que van apareciendo progresivamente y a su vez complicando el cuadro clínico y agravando la situación del paciente. A continuación, se citan y se describen algunos de esos trastornos²⁸.

Complicaciones Crónicas.

Clásicamente se acepta que habiendo tiempo suficiente, todo paciente diabético cae en complicaciones ocasionadas por la diabetes, la aparición de estos cuadros depende del manejo del paciente, de su disciplina y sobre todo el tiempo de evolución. De acuerdo con dos líneas de investigación muy importantes de la diabetes como son el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)²⁹ y el UK Prospective Diabetes Study (UKPDS)³⁰ hoy en día se sabe que manteniendo los niveles de glucosa dentro de un rango lo más cercano posible a la normalidad, se retarda la aparición de complicaciones tanto crónicas como agudas que afectan a los pacientes diabéticos.

Nefropatía Diabética.

Aproximadamente un 20-30% de todos los pacientes con diabetes desarrollan nefropatía. El daño renal progresivo, que conduce a alteración en la función renal y a una posible enfermedad renal terminal, es una complicación seria de la DM1 y de la DM2. La nefropatía diabética (NPD) es la causa más frecuente de insuficiencia renal terminal en los países

occidentalizados, representando cerca del 30% de todos los casos. Aunque la progresión a enfermedad renal terminal es menor en la DM2.

La evolución de la NPD puede resumirse en cinco estadios

Estadio I: Se caracteriza por hipertrofia renal y cambios funcionales (hiperfunción y aumento de la filtración glomerular). La excreción de albúmina es normal, y no existe hipertensión arterial.

Estadio II: Hay aumento de grosor de la membrana basal glomerular, pero sin alteración de la excreción proteica (puede haber microalbuminuria intermitente en respuesta al ejercicio o en fases de mal control glicémico).

Estadio III o NPD incipiente: Definida por la aparición de microalbuminuria (30-300 mg/día) en ausencia de infección urinaria. Suele iniciarse la elevación de la tensión arterial. Aparece típicamente de los 5-15 años del inicio de la diabetes.

Estadio IV o NPD establecida: Ya existe gloméruloesclerosis y proteinuria (proteínas en orina >500 mg/24h o albuminuria >300 mg/día). El 75% de los enfermos presentan hipertensión arterial y existe un mayor o menor grado de retinopatía. Hay un descenso del filtrado glomerular de unos 10 ml/año. Aparece a los 15-25 años del diagnóstico de la diabetes.

Estadio V o insuficiencia renal avanzada: Se define por tasa de filtración glomerular <10 ml/min. Hay elevación de la tensión arterial, la retinopatía siempre está presente y la afectación cardiovascular siempre es muy frecuente. Aparece tras 7-10 años de proteinuria persistente en el 50% de los pacientes con diabetes mellitus ¹³¹.

Retinopatía Diabética.

La (RD) afecta a más del 60% de los diabéticos a los 20 años de evolución y en el momento del diagnóstico se encuentra ya al 20%^{32,33}. Es la causa más frecuente de ceguera en los países industrializados. En la RD, se incluyen también afecciones a otras estructuras del ojo: cristalino (cataratas) y cámara anterior (glaucoma). La RD se relaciona con el grado de control glicémico, los años de evolución y la presencia de microalbuminuria y la presión arterial³⁴.

Neuropatía Diabética.

Es la complicación crónica más frecuente de la diabetes (62%). La neuropatía autonómica afecta al 20-40% de los diabéticos tipo 2, aunque solo el 5-19 tienen síntomas. La afección más grave es la cardiovascular ya que se asocia a aumento de muerte súbita, arritmias cardíacas, entre otras. El pronóstico es malo: un 50% de los pacientes fallecen en los 2-5 años siguientes al diagnóstico. Son frecuentes también los síntomas gastrointestinales, genitourinarios e hipoglicemias inadvertidas^{35, 36}.

Pie Diabético.

El pie diabético es la complicación de la DM con mayores implicaciones económicas y sobre la calidad de vida de los pacientes^{37, 38}. En el estudio de GEDAPS (1995) la prevalencia de amputación fue del 2% y la incidencia de úlceras del 5.5-7%³⁹. El pie diabético es casi siempre consecuencia de la pérdida de sensibilidad por neuropatía y la presencia de deformidades (pie de riesgo). El desencadenante más frecuente de las

lesiones son los traumatismos debido al calzado, que provocarán la lesión tisular y la aparición de úlceras³⁷.

Complicaciones Agudas.

Son trastornos generalmente graves en pacientes diabéticos descompensados y son mas frecuentes en adolescentes y en niños. Por lo general son secundarios al manejo terapéutico, pero más principalmente es provocado por desordenes propios del paciente que descuida su alimentación y la disciplina que debe observar. Se comentan a continuación los estados más frecuentes²⁸.

Hipoglicemia.

La definición de hipoglicemia es bioquímica: glicemia venosa menor a 60 mg/dL o en sangre capilar inferior a 50 mg/dL. Algunos pacientes pueden presentar síntomas antes de alcanzar estas cifras. La hipoglicemia nocturna debe sospecharse ante una clínica de sudación, y agitación nocturna, pesadillas y cefalea matutina. Para su diagnóstico es preciso practicar glicemias capilares nocturnas a las 3-4 h de la madrugada. La mayor parte de los pacientes son mayores de 60 años tratados con insulina o con secretagogos. Las principales causas de hipoglicemia son: retraso o disminución de las ingestas, omitir algún suplemento, aumento del ejercicio físico, errores de tratamiento farmacológico, excesiva ingesta de alcohol, entre otras^{40, 41}.

Cetoacidosis Diabética.

Se trata de una descompensación aguda precipitada por factores como infecciones y traumatismos. El nivel de glucosa sanguínea es mayor a 250 mg/dL. El cuadro clínico se caracteriza por deshidratación, presión arterial baja, súbito incremento en el nivel de orina, sed, náuseas, vómito, dificultad respiratoria y palpitaciones. De no recibir atención el paciente evoluciona, hacia la fatiga, somnolencia y disminución del estado de alerta⁴².

Tratamientos de la diabetes

El tratamiento en la diabetes es indispensable para aliviar los síntomas, prevenir las posibles complicaciones de la enfermedad, mejorar la calidad de vida y sobre todo reducir la mortalidad. Para esto el tratamiento se basa no solo en un tratamiento farmacológico sino que también se les recomienda a los pacientes seguir una dieta y realizar ejercicio para conseguir un buen control de la enfermedad. A continuación y de una forma muy básica se mencionaran algunos puntos para el tratamiento de la diabetes.

No Farmacológico

Este tipo de tratamiento es aquel en donde no interviene ningún medicamento, solo se basa en mantener los niveles de glucosa normales en la sangre en base a dietas, ejercicios, y una alimentación balanceada.

Actividad Física

Valorar la que realiza actualmente y adaptar las recomendaciones a sus posibilidades y preferencias.

- Considerar los riesgos que puede suponer sobre las complicaciones (cardiopatía, neuropatía, retinopatía, hipoglucemias, etc.)
- Se recomienda realizar ejercicio de intensidad ligera o moderada (dependiendo de la situación basal de cada persona) durante al menos 30 minutos, y como mínimo 3 días a la semana⁴³.

Dieta

Esta debe de ser variada con suficiente consumo de verduras y frutas, hidratos de carbono complejos, fibra y con restricciones en el consumo de grasas.

- Se debe evitar el consumo de azúcares simples (miel, jaleas, dulces, etc.) permitiéndose el uso de edulcorantes no nutritivos, como aspártame y sacarina.
- Se recomienda que en las comidas complementarias, se consuman preferentemente verduras, equivalentes de pan y derivados lácteos descremados.
- La restricción de alcohol es recomendada para todos los pacientes²⁶.

Farmacológico

El manejo farmacológico es el que consiste en tratar al paciente con algún tipo de medicamento o droga, ya sea tratamiento oral o inyecciones de insulina debido a que cada organismo se comporta de forma distinta el

médico debe de elegir el tratamiento adecuado para cada paciente. A continuación, se mencionan de forma muy básica algunos de los medicamentos para la diabetes.

Hipoglicemiantes Orales.

Está indicado para aquellos pacientes que en un periodo de 2-4 meses no responden al tratamiento con dieta y ejercicio⁴⁴.

En la actualidad se dispone de cinco grupos de antidiabéticos orales que poseen los siguientes mecanismos de acción:

- Estimulan la secreción de insulina: sulfonilureas y secretagogos de acción rápida (glinidas).
- Disminuyen la resistencia a la insulina: Biguanidas y glitazonas.
- Reducen o retardan la absorción de la glucosa: inhibidores de la alfa glucosidasa

Sulfonilureas: (SU)^{45, 46}. Son el grupo de hipoglicemiantes orales de efecto más potente, mejor toleradas y de bajo costo, de tal forma que constituyen la base del tratamiento de de la DM2 en sujetos de peso normal o con leve sobrepeso y en adultos mayores de reciente diagnóstico. Estas drogas pueden ser consideradas como tratamiento de primera línea en personas con sobrepeso cuando la cuando la metformina no es tolerada o está contraindicada. Las drogas insulinosecretoras deben ser usadas en combinación con metformina en personas con sobrepeso cuando el control glicémico es insatisfactorio. Disminuyen la HbA_{1c} en 1,5-2 puntos.

Contraindicaciones: insuficiencia hepática, insuficiencia renal, hipoglucemias, alergia, embarazo, lactancia e hipersensibilidad a las SU.

Repaglinida ⁴⁶⁻⁵⁰. Facilita la liberación de la primera fase de la secreción de insulina, reduciéndola hiperglicemia posprandial. Actúa sobre un receptor diferente a las SU y la duración de su acción es mas corta. Su metabolización hepática y eliminación biliar permite su administración en casos de insuficiencia renal. La reducción de HbA_{1c} es similar a la producida por las SU (1,5-2 puntos). Su uso se indica cuando las SU producen hipoglucemias, existe insuficiencia renal leve, o no se controlan adecuadamente las hiperglicemias posprandiales.

Contraindicaciones: las mismas que las SU, excepto la insuficiencia renal. Al no ser un derivado de las sulfamidas se podría administrar a paciente con alergias a las SU.

Biguanidas (Metformina) ⁵¹⁻⁵³. La metformina es la única biguanida recomendada en la actualidad por su menor riesgo de acidosis láctica. Disminuye la gluconeogénesis hepática y aumenta la utilización periférica de glucosa. No produce hipoglucemia y disminuye la hemoglobina glicosilada 1,5-2 puntos. Puede asociarse a otros fármacos orales y a insulina.

Contraindicaciones específicas: enfermedad cardiovascular grave, alcoholismo, insuficiencia renal, hepática o respiratoria o en cualquier situación que predisponga a la hipoxia tisular por el riesgo de acidosis láctica⁴⁶.

Inhibidores de las Alifaglucosidasas ^{46, 51, 54, 55.} (Acarbosa y Miglitol), inhiben de forma reversible las alifaglucosidasas intestinales, retardando la absorción de los hidratos de carbono y reduciendo la hiperglicemia posprandial. Reducen la hemoglobina glicosilada en 0.5-1 puntos. Puede utilizarse sola o asociada a otros fármacos orales o insulina.

Contraindicaciones: embarazo, lactancia, edad inferior a 18 años, hipersensibilizada los principios activos y a las enfermedades intestinales crónicas.

Insulinoterapia.

Se sabe que en la DM2 hay un progresivo deterioro de la secreción insulínica. Se puede considerar que exista una falla definitiva de la célula beta pancreática, si en ausencia de enfermedades intercurrentes, se cumplen las siguientes condiciones clínicas¹:

- Incapacidad para obtener y mantener niveles de glicemias y hemoglobina glicosilada adecuados pese a recibir dosis máxima de dos o más hipoglicemiantes orales, de los cuales uno debe de ser insulinosecretor.
- Baja acelerada de peso.

Una persona con DM2 puede requerir insulina en forma transitoria en descompensaciones agudas graves, infecciones, infarto agudo de miocardio, uso de medicamentos que elevan la glicemia (en especial glucocorticoides), cirugía y embarazo. Existen diferentes tipos de insulina: rápidas, intermedias, lentas, premezcladas, análogos de insulinas, en diferentes presentaciones y nombres comerciales.

Contraindicaciones: la principal complicación es la hipoglucemia, puede presentarse alergia, resistencia insulínica (por infecciones, fármacos, genéticas, inmunes), aunque con muy baja frecuencia.

Vigilancia.

El propósito del tratamiento de un diabético es el mantenimiento de un nivel de glucosa tan normal como sea posible, sin correr el riesgo de una hipoglicemia severa. Así, la vigilancia realizada en las clínicas o consultorios médicos consiste en el seguimiento de los niveles de glucosa en sangre para detectar evidencias de hiperglicemia o hipoglicemia. Una prueba auxiliar importante es la medición de las proteínas glicosiladas. Estas mediciones de proteínas glicosiladas pueden dar al médico un índice cuantitativo del estado glicémico del paciente durante 1-6 semanas anteriores. De acuerdo con los resultados de las mediciones de glucosa es posible modificar el tratamiento para permitir que el paciente llegue a un estado euglicémico⁵⁶.

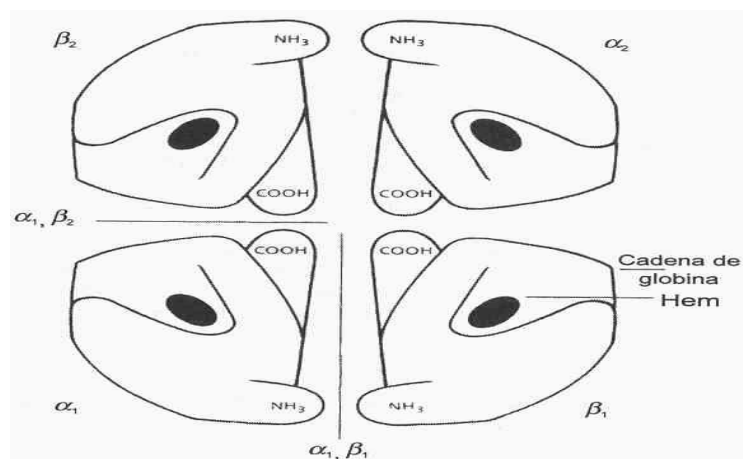
Hemoglobina y Hemoglobina Glicosilada

La hemoglobina (Hb), es una proteína de los eritrocitos cuya función es el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos y del dióxido de carbono de los tejidos a los pulmones. Esta ocupa cerca del 33% del volumen del eritrocito. Se considera que aproximadamente 6.25 grs. de

hemoglobina se sintetizan diariamente, con el fin de mantener una concentración constante de ésta en la célula.

Una molécula de hemoglobina contiene cuatro subunidades (tetrámeros), donde cada subunidad contiene un grupo hem que es almacenado en la hendidura hidrofóbica de una cadena proteínica, la globina. Se forman diferentes tipos de hemoglobina, de acuerdo con la composición de las cadenas tétradas de globina relacionadas. La composición de estas cadenas de globina es responsable de las distintas propiedades funcionales y físicas de la hemoglobina. En los adultos normales existen cuatro tipos de cadenas de globina: α , β , δ y γ . Un par de cadenas α se combina con un par de cadenas β , δ o γ para formar tres tipos de hemoglobina: Hb A ($\alpha_2\beta_2$; 97%), Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$; 2.5%) y Hb F ($\alpha_2\gamma_2$; 0.5%). En la figura 1 se muestra las estructura de la hemoglobina⁵⁷.

Figura 1. Estructura de la hemoglobina



Fuente: McKenzie, 2000.

Glicación de la Hemoglobina

La Hb A es la normal, y la Hb F es la hemoglobina fetal, se desconoce la trascendencia biológica de la Hb A₂. Se ha descubierto que existen por lo menos cinco formas diferentes de HbA: HbA₀ (96%), HbA_{1a1} (0.2%), HbA_{1a2} (0.2%), HbA_{1b} (0.4%) y la HbA_{1c} (3%). Todas tienen la misma composición $\alpha_2\beta_2$, pero las cadenas β de las cuatro formas menores poseen unidades de azúcar simple ligadas a ellas por enlaces covalentes. Por consiguiente, a las HbA₁ se denominan hemoglobinas glicosiladas⁵⁸.

Se sabe que la HbA_{1c} es un componente normal y constante en el hematíe y ésta comprende de un 5 a un 7% de la hemoglobina total, siendo el más abundante de los componentes minoritarios⁵⁹.

Varios investigadores aseguran que el nivel de la HbA_{1c} se encuentra elevada 2 a 3 veces en pacientes diabéticos con respecto al nivel de individuos normales⁶⁰.

Debido a que la hemoglobina glicosilada circula dentro de los eritrocitos, cuya vida media es hasta de 120 días, por lo general, refleja el estado de glicemias durante las 8 y 12 semanas precedentes, por tanto, proporciona un método mejorado para valorar el control del diabético¹⁸.

Aunque es difícil establecer una relación entre HbA_{1c} y los niveles medios de glicemia mantenidos en los tres meses anteriores, la tabla 4 puede servir para establecer esa relación, y como pauta de valoración del control glicémico⁶¹.

Tabla 4. Relación de glicemias con HbA_{1c}.

HbA _{1c}	Glicemia media	Valoración del control
5-6%	80-120 mg/dL	Excelente
6-7%	120-150 mg/dL	Bueno
7-8%	150-180 mg/dL	Regular
8-9%	180-210 mg/dL	Problemático
9-10%	210-240 mg/dL	Malo
>10%	> 240 mg/dL	Muy malo

Fuente: Adezaragoza, 2007.

Estructura de la Hemoglobina glicosilada

El término hemoglobina glicosilada engloba a un grupo de hemoglobinas, que llevan unidos restos de azúcares y que son modificaciones post sintéticas de la fracción principal que es la denominada HbA.

Estos compuestos minoritarios se originan por la unión de glucosa y azúcares fosfatos al amino terminal del aminoácido valina, así como al grupo amino de lisina de las cadenas α y β de la hemoglobina.

Las valinas terminales y sobretodo las β valinas son más reactivas debido a su más bajo pK que las hacen nucleófilos más eficaces para la formación de la aldimina inicial. La subsiguiente cetamina desciende el punto isoeléctrico de la proteína, lo que la hace más negativa, favoreciendo la separación de estos compuestos por diversas metodologías.

La α valina es menos reactiva posiblemente debido a la presencia de difosfoglicerato unido a β valina por lo que el producto que se forma (HbA_{1d3}) es solo ligeramente mas rápido de movilidad que la HbA.

Para diferenciar los compuestos glicosilados se utiliza diferente nomenclatura y así las modificaciones NH₂ terminales junto con las no terminales se les reconoce como hemoglobina glicosilada total o hemoglobina glicosilada y a las modificaciones NH₂ terminales como HbA₁^{60, 62, 63}.

Las diferentes fracciones de la HbA₁ fueron separadas por técnicas cromatográficas o electroforéticas. Su estructura queda reflejada en la tabla 5.

Tabla 5. Estructura de la hemoglobina A₁

Fracción	Modificación	%
A _{1a1}	(β -N-Fructosa 1-6 difosfato) ₂	0.3
A _{1a2}	(β -N-Glucosa 6-fosfato) ₂	0.3
A _{1b}	(β -N-carbohidrato) ₂	1
A _{1c}	(β -N-Glucosa) ₂	4-6
A _{1d}		Trazas
A _{1e}		Trazas

Fuente: Grande 1992.

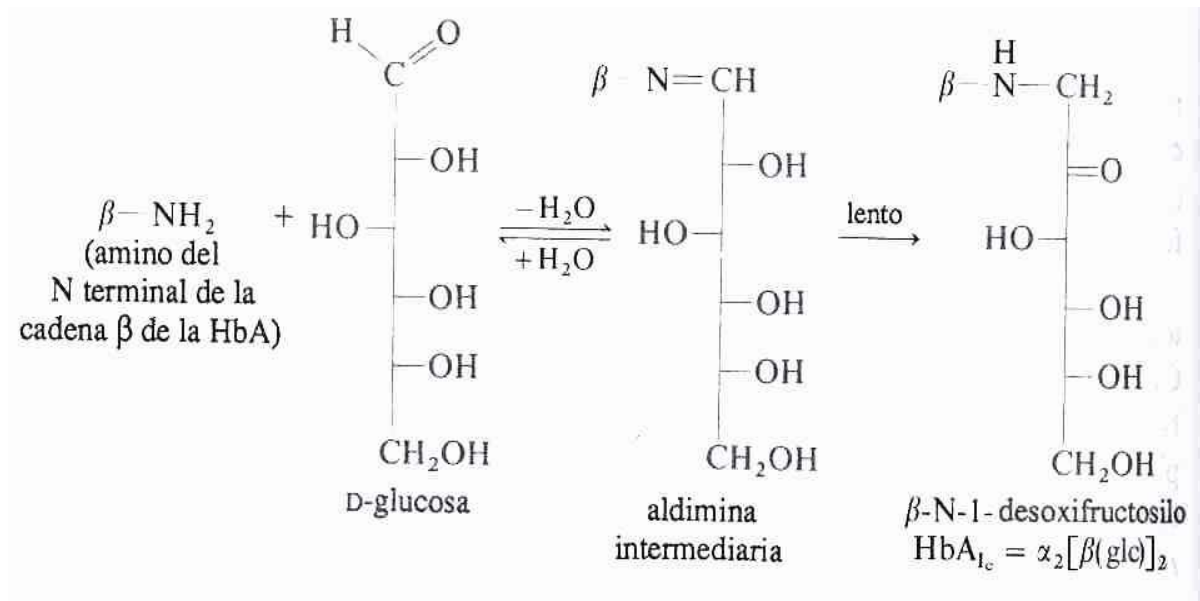
Síntesis de HbA_{1c}

La formación de HbA_{1c} es un proceso en dos etapas. La primera reacción es rápida y se origina una aldimina o intermediario lábil, fácilmente dissociable (pre A_{1c}), el cual sufre una reordenación de Amadori para formar mediante una unión covalente una cetoamina (A_{1c}), que es prácticamente irreversible.

La HbA_{1c} in vivo se forma lenta y continuamente durante la vida del hematíe. Esto fue demostrado en 1976 por Bunn y Cols. Inyectando transferrina marcada con Fe⁵⁹ a individuos sanos, mediante lo cual observo que la actividad específica de los componentes minoritarios (HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}) aumentaban progresivamente con el tiempo y excedían a la HbA aproximadamente en el día 60. Esto es compatible con el hecho de que sea un proceso lento e irreversible^{56, 62,64}.

El que la glicación de la HbA_{1c} es un proceso no enzimático, fue demostrado en 1976 cuando se sintetizó HbA_{1c} a partir de HbA pura y glucosa marcada con C¹⁴. La HbA_{1c} que se obtuvo, tenía propiedades estructurales y comportamiento cromatográfico idéntico al observado por la HbA_{1c} in vivo, así como su velocidad de síntesis era prácticamente similar a la calculada con el estudio cinético de Bunn⁶³.

Figura 2. Síntesis de hemoglobina glicosilada.



Fuente: Bohinski, 1998.

Factores que Modifican la Glicosilación no Enzimática

La glicosilación no enzimática tiene lugar bajo condiciones fisiológicas en los individuos normales, no obstante, existen factores que influyen en la cantidad absoluta y en el porcentaje en el que una proteína se glica.

Entre los factores que influyen en la glicosilación proteica están el grado y la duración de la hiperglicemia, la vida media de la proteína circulante y tisular; es importante mencionar que la permeabilidad del tejido a glucosa y el porcentaje de carbohidrato de la proteína son factores importantes en el grado de glicosilación proteica^{59, 63}.

Revisión de Métodos

Hemoglobina glicosilada

Se han descrito una gran variedad de métodos para la cuantificación de hemoglobinas glicosiladas. Los cuales quedan resumidos en la siguiente lista⁵⁶.

Métodos de cuantificación de proteínas glicosiladas:

Cromatografía

- cromatografía de intercambio iónico.
 1. minicolumna.
 2. HPLC.
- Cromatografía de afinidad.

Fotometría

- Colorimetría.
- Fluorimetría.

Electroforesis.

- Agar gel.
- Isoelectroenfoque.

Inmunoensayo.

- Radioinmunoensayo.
- Enzimoimmunoensayo.

Cromatografía de Intercambio Iónico

Desde que la HbA_{1c} fue aislada mediante cromatografía sobre Bio-Rex 70, el uso de esta resina de intercambio catiónico ha sido el método más

aplicado para su cuantificación, y por consiguiente el estándar con el que se comparan los demás.

El procedimiento fue realizado originalmente por Trivelli y Cols. En 1971 y modificado y simplificado mas tarde por otros autores.

Hoy día se utilizan dos modalidades, minicolumnas desechables o cromatografía líquida de alta resolución. El fundamento es el mismo para ambas, y se basa en el cambio de cargas que experimenta la hemoglobina, cuando se le une un carbohidrato en el grupo amino terminal de la cadena beta. Así, a pH neutro, es menos positiva que la HbA₀ y se liga con menos fuerza una resina cargada negativamente.

Existen muchos factores que intervienen con el ensayo entre los que se encuentran: las hemoglobinopatías, la HbF, la HbS, la HbC, salicilatos, entre otros^{63, 65}.

Glucosa

Químicamente la glucosa es una aldohexosa cuya forma aldehído está en equilibrio con la forma glucopiranososa esta última es la favorecida por el pH fisiológico. El equilibrio aldehído enodiol permite que la glucosa sea reducida y oxidada con facilidad.

Los métodos para la determinación de glucosa pueden dividirse en dos grupos: químicos y enzimáticos. Los métodos químicos más antiguos para la determinación de glucosa sérica estaban basados en la capacidad de la glucosa para reducir directamente los iones cúpricos (Cu²⁺) a iones cuprosos monovalentes (Cu⁺)⁵⁶. En la actualidad estos procedimientos

químicos no se utilizan en el laboratorio y se les presenta en la tabla 6 solo por su interés histórico.

Sin embargo, los métodos enzimáticos proporcionan una especificidad máxima en cuanto a las estimaciones de glucosa. Esta puede medirse por su reacción con la glucosa-oxidasa, o la glucosa-hexocinasa; este procedimiento proporciona un elevado grado de especificidad para la determinación de la glucosa; tal ensayo ha sido propuesto como método de referencia para la determinación de glucosa, pero el principal inconveniente de la hexocinasa lo constituye su costo⁶⁶.

Tabla 6. Métodos para el análisis de glucosa

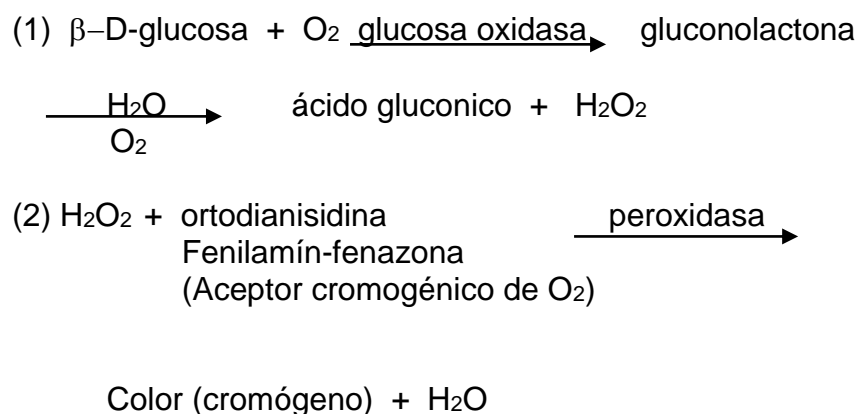
Método	Tipo de Análisis	Usos
Reducción de Cobre		
1.- Fosfomolibdato (Folin-Wu)	Cuantitativo	Interés histórico
2.- Aresenomolibdato (Somogyi-Nelson)	Cuantitativo	Semicuantitativo para azúcares reductores en orina.
3.- Benedict	cualitativo- semicuantitativo	Semicuantitativo para azúcares reductores en orina
4.- O-toluidina	Cuantitativo	Suero y orina.
Enzimático		
5.- Hexoquinasa (HK)	cuantitativo espectrofotométrico	suero, LCR, orina; automatizado, el método mas usado
6.- glucosa oxidasa	Cuantitativo	suero, LCR, orina; adaptado fácil al análisis automatizado
7.- Atenuación de energía de radiación	Cuantitativo	Raro, suero
8.- glucosa deshidrogenada	Cuantitativo	Raro, suero, LCR

LCR: líquido cefalorraquídeo

Fuente: Pessee 1990.

Glucosa oxidasa

En la reacción de glucosa-oxidasa se produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El peróxido de hidrógeno reacciona a continuación con un aceptor de oxígeno del tipo de la orto-dianisidina, la fenilamín-fenazona (reactivo de Trinder) u otros aceptores cromogénicos, en una reacción catalizada por la peroxidasa para dar color⁶⁵.



La glucosa-oxidasa es muy específica en el caso de la β -D-glucosa, y cualquier glucosa presente en forma alfa debe pasar a la forma beta antes de la reacción. Algunas preparaciones de la glucosa-oxidasa contiene a enzima mutarrotasa, que acelera el proceso. El segundo paso en el que aparece implicada la peroxidasa es menos específico que el primero, y un gran número de sustancias reductoras inhiben la oxidación de los cromógenos utilizados en la reacción de la peroxidasa⁶⁶.

Existen diversos factores que intervienen con el ensayo.

- El ácido úrico y la creatinina producen una interferencia mínima.

- El ácido ascórbico provoca una falsa disminución de los valores.
- Lipemia
- Bilirrubina

Niveles Fisiológicos Normales de HbA_{1c} y Glucosa Basal

Es importante recordar que los procesos de glicosilación de la hemoglobina y de metabolización de glucosa en la sangre se llevan a cabo en el organismo de todas las personas. La diferencia está en que las personas diabéticas presentan niveles mas elevados de ambos parámetros. Según recomendaciones de la ADA los niveles normales o límites para personas diabéticas son: HbA_{1c} < 7% y glucosa de 80-120 mg/dL⁶⁷.

MATERIALES Y METODOS

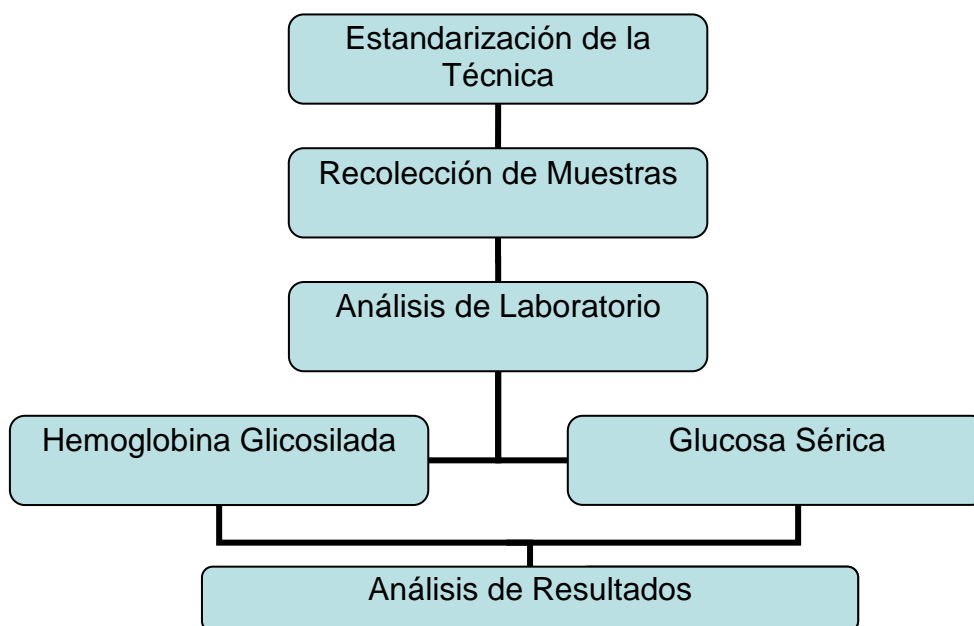
Para la cuantificación de hemoglobina glicosilada se utilizó el reactivo marca Biokwitech producto: G160 1, lote: 042161.

Para la determinación de glucosa se utilizó el reactivo glucosa GOD-POD de la casa Spinreact.

El equipo adicional incluyó pipetas automáticas de, 20 y 50 μL , pipeta serológica de 5 mL clase A, tubos de vidrio de 10 x 100 mm, agitador marca Clay Adamas, agua deionizada, gradilla para tubos de 10 x 100 mm y artículos de limpieza.

Metodología

Se procedió según el siguiente diagrama de flujo.



Criterios de Inclusión.

Se eligió a pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 independientes de edad y sexo que asistan a control en instituciones públicas o a consulta privada.

Se decidió realizar el proyecto con diferentes grupos de diabéticos, para no enfocar la investigación solo a pacientes de una institución, sino que tener idea de que es lo que sucede con pacientes de diferentes instituciones, tanto del gobierno como privadas, y tener una respuesta más amplia sobre el comportamiento de los diabéticos.

Este estudio es de tipo directo y observacional. Se realizó en la ciudad de H. Caborca, Sonora, con pacientes de la Unidad Médica Familiar No. 8 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), del hospital Servicio Medico de Sonora (SEMESON), un grupo organizado de diabéticos auspiciado por el Club de Leones, un grupo de población abierta y un grupo de pacientes no diabéticos.

La población de estudio abarcó un total de 64 pacientes de ambos sexos con diagnóstico de diabetes mellitus 2 y 15 pacientes no diabéticos (grupo 5) para ser utilizado como grupo control. De los pacientes diabéticos la distribución es la siguiente: Del SEMESON 16 pacientes (grupo 1), 19 pacientes que pertenecen al IMSS (grupo 2), 12 pacientes

del grupo auspiciado por el Club de Leones (grupo 3) y 17 de población abierta (grupo 4). En total la población es de 79 pacientes.

Antes de realizar la investigación se asistió a cada una de las instituciones antes mencionadas, para plantear el proyecto y así obtener el apoyo de las autoridades correspondientes, a demás se hablo con cada una de la persona de los grupos de pacientes para informar a cerca de lo que se trataba el estudio y contar con su cooperación y disposición para realizarlo, para lo cual se obtuvo una respuesta muy satisfactoria por parte de los pacientes.

Estandarización de la Técnica

Se corrieron diez ensayos utilizando el patrón de 10% de HbA_{1c} el cual viene incluido en el kit de reactivos; se obtuvieron los siguientes resultados:

Media	9.91
Desviación Estándar	0.42

El valor establecido de la desviación estándar por el fabricante, es 0.60. Se considera que el equipo y los reactivos están funcionando adecuadamente.

Recolección de Muestra

La recolección de muestra se realizó a los 79 pacientes en ayuno en dos tubos, uno con anticoagulante (EDTA) para la determinación de

hemoglobina glicosilada y otro sin anticoagulante para la determinación de glucosa sérica. Ambas muestras se procesaron el mismo día.

La determinación de hemoglobina glicosilada y glucosa se realizó en el laboratorio de la Universidad de Sonora de H. Caborca; se llevaron a cabo bajo condiciones óptimas de control de calidad, donde por cada 10 muestras se corrió un estándar para evitar posibles errores en los resultados. Se utilizó un espectrofotómetro de la marca Unico 2100 series.

La toma de datos personales de los pacientes se realizó al momento de la recolección de muestra, así como una encuesta para tener mayor información acerca del estado del paciente. Dicha encuesta se encuentra en el apéndice 4.

Técnica de Laboratorio

El material utilizado (como pipetas, cubetas y demás cristalería) fueron sometidos a un estricto protocolo de limpieza: eran lavados con agua corriente, jabón organisol, enjuagados con agua corriente y finalmente con agua destilada. Las cubetas utilizadas en el espectrofotómetro eran lavadas con agua bidestilada y secadas al medio ambiente, evitando así posibles interferencias de lecturas.

Se utilizaron reactivos de la marca Biokwitech para la determinación de HbA_{1c} y equipos de GOD-POD para la determinación de glucosa. Las técnicas se describen en el apéndice 2 y 3.

Se comprobó la vigencia y se determinó el buen funcionamiento de los reactivos de glucosa y hemoglobina glicosilada corriendo patrones para tener la seguridad de que los resultados están dentro de lo que indican los instructivos incluidos en los equipos.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 7. Resultados de Grupo 1

EDAD (años)	PADECIMIENTO (años)	NIVEL GLUCOSA (mg/dL)	NIVEL HbA _{1c} (%)
40	25	95	7
41	22	100	9
42	11	80	7.9
47	20	101	8.8
48	26	89	8.4
51	5	136	7
52	6	106	8.3
52	3	93	9.4
55	8	135	9.1
56	17	115	8.5
57	5	88	7.7
57	13	79	6.6
60	20	92	6.9
61	14	98	7.7
63	12	97	6.2
69	15	99	6.7

Tabla 8. Resultados de Grupo 2.

EDAD (años)	PADECIMIENTO (años)	NIVEL GLUCOSA (mg/dL)	NIVEL HbA _{1c} (%)
45	16	160	6.4
45	10	168	6.7
47	4	147	7.7
53	1	169	8.3
53	7	139	6
54	10	134	8.1
56	4	145	6.7
56	8	86	8
58	4	76	8.9
62	25	195	7.9
63	3	112	7.8
65	5	130	6.4
67	2	120	8.4
67	14	84	9.4
68	15	139	12.2
69	30	203	8
70	23	155	8.4
73	7	111	8
83	6	98	11.3

Tabla 9. Resultados de Grupo 3.

EDAD (años)	PADECIMIENTO (años)	NIVEL GLUCOSA (mg/dL)	NIVEL HbA _{1c} (%)
20	11	114	8.9
43	2	147	9.4
43	5	133	8.4
49	8	88	7.6
53	15	111	7.7
54	1	96	7.7
57	12	133	6.1
57	10	87	8.3
64	20	85	7.6
64	5	92	6.2
67	20	85	6.2
87	3	174	7.1

Tabla 10. Resultados de Grupo 4.

EDAD (años)	PADECIMIENTO (años)	NIVEL GLUCOSA (mg/dL)	NIVEL HbA _{1c} (%)
41	1	76	8.3
43	17	174	6.4
48	13	136	8.5
54	8	126	5.9
56	5	72	8.3
56	5	74	9.9
56	1	134	6.5
59	10	136	7.8
62	15	75	9.2
62	20	126	6.4
68	5	123	5.7
68	1	81	8.3
69	2	118	6.2
73	10	73	8.5
81	20	130	10.5
83	6	92	8.5
85	23	89	9.5

Tabla 11. Resultados de Grupo 5.

EDAD (años)	PADECIMIENTO (años)	NIVEL GLUCOSA (mg/dL)	NIVEL HbA _{1c} (%)
38	-	88	5.8
39	-	87	7
44	-	110	5.5
46	-	70	7.4
49	-	110	6.2
53	-	88	5.6
56	-	96	7.1
57	-	94	6.1
61	-	81	6.7
63	-	107	7.9
64	-	97	7.6
64	-	102	7.2
67	-	123	5.3
71	-	99	5.4
74	-	86	6.2

ANÁLISIS DE DATOS

Se presentan enseguida las gráficas de columna para cada grupo y se analizan los resultados.

Para la discusión de resultados se tomó como base la Norma Oficial Mexicana (NOM-015-SSA2-1994) que marca los siguientes límites:

Tabla 12. Límites de hemoglobina glicosilada y glucosa sérica.

	Buen Control	Regular Control	Mal Control
Glucosa (mg/dL)	< 110	110-140	>140
HbA _{1c} (%)	< 6.5	6.5-8	>8

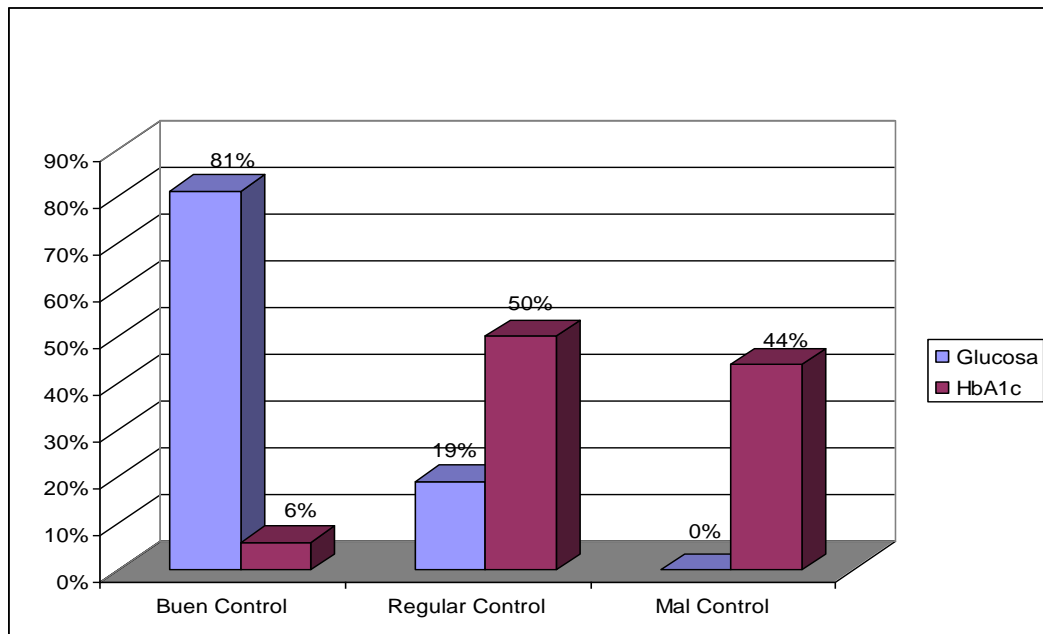
Fuente: NOM.

Para analizar los datos se tomaron en cuenta los grupos, ordenando en forma decreciente los niveles de hemoglobina glicosilada y de glucosa sérica, determinándose también el porcentaje correspondiente a cada una de las clasificaciones.

Primer Grupo.

Los integrantes de este grupo son pacientes diabéticos que asisten a consulta médica y a laboratorio mensualmente. En la gráfica 1 se muestran los resultados.

Gráfica 1. Grupo 1 Relación Glicemia-HbA1c.



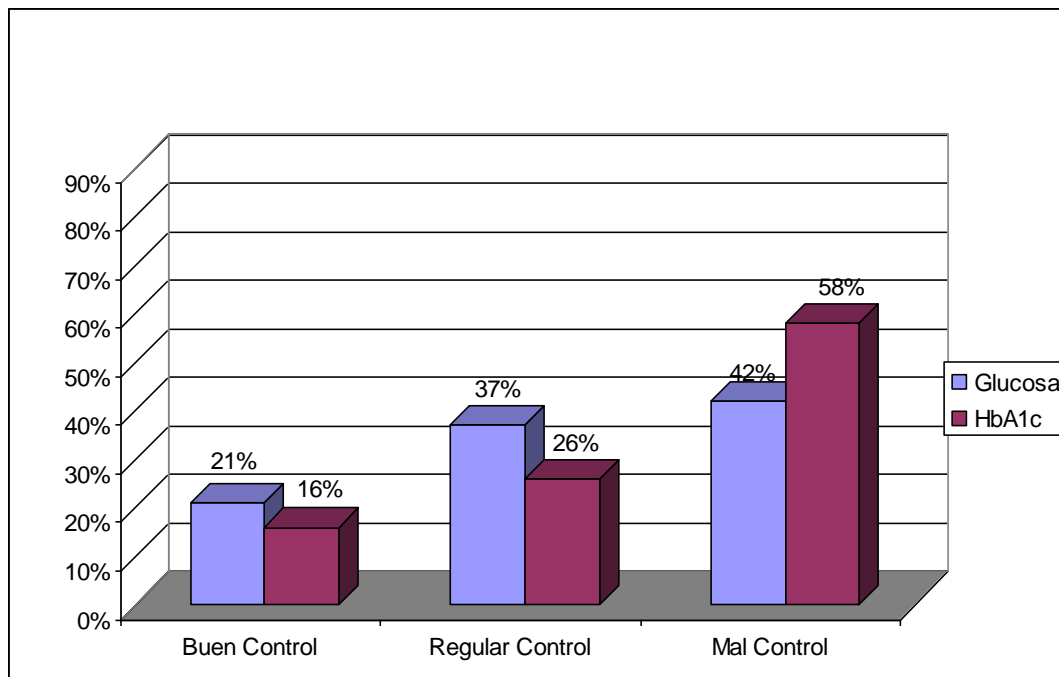
De acuerdo al nivel de glicemia el 81% de los pacientes están en buen control lo cual resulta ser falso de acuerdo con el criterio de hemoglobina glicosilada (HbA1c) la cual revela que solo el 6% están bien controlados.

Por otra parte el 94% de los pacientes entran en el rango de regular o mal control por la clasificación de HbA1c.

Segundo Grupo.

Este grupo esta formado por pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus 2 el cual asiste a consulta médica cada mes y a laboratorio alrededor de cada dos meses. Los resultados se muestran en la gráfica 2.

Gráfica 2. Grupo 2 Relación Glicemia-HbA1c.



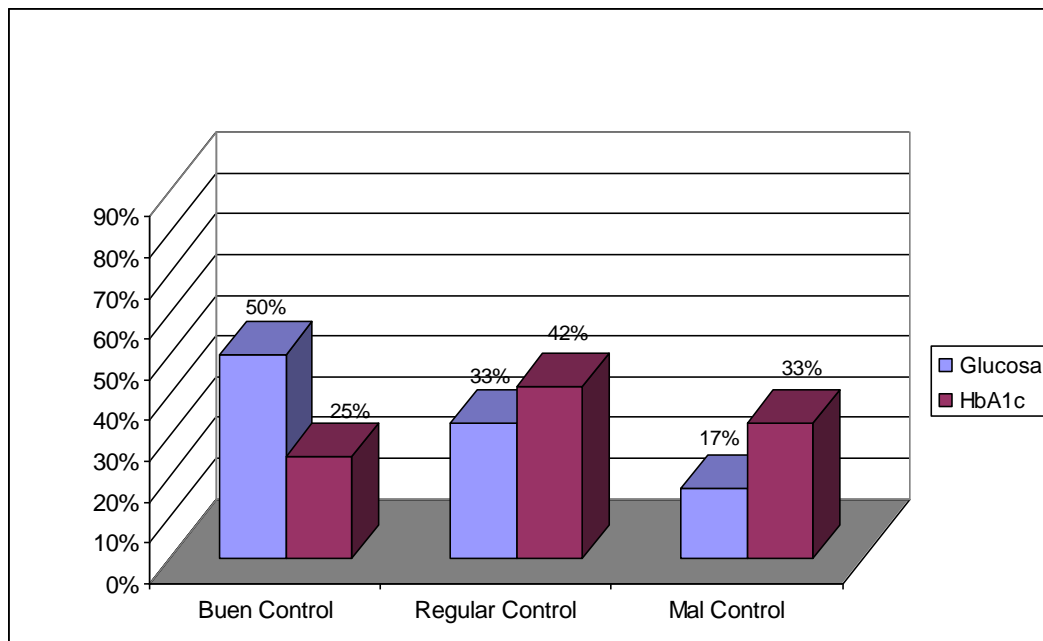
En este grupo se observa mejor congruencia entre los niveles de glicemia y HbA1c pero los resultados indican que solo el 21% (glicemia) o el 16% (hemoglobina glicosilada) están en buen control.

El resto 79% (glicemia) o 84% HbA1c pueden clasificarse en regular o mal control.

Tercer Grupo.

Este grupo está auspiciado por un club de servicio que brinda apoyo a diabéticos mediante pláticas de orientación y asiste a consulta privada.

Gráfica 3. Grupo 3 Relación Glicemia-HbA1c.

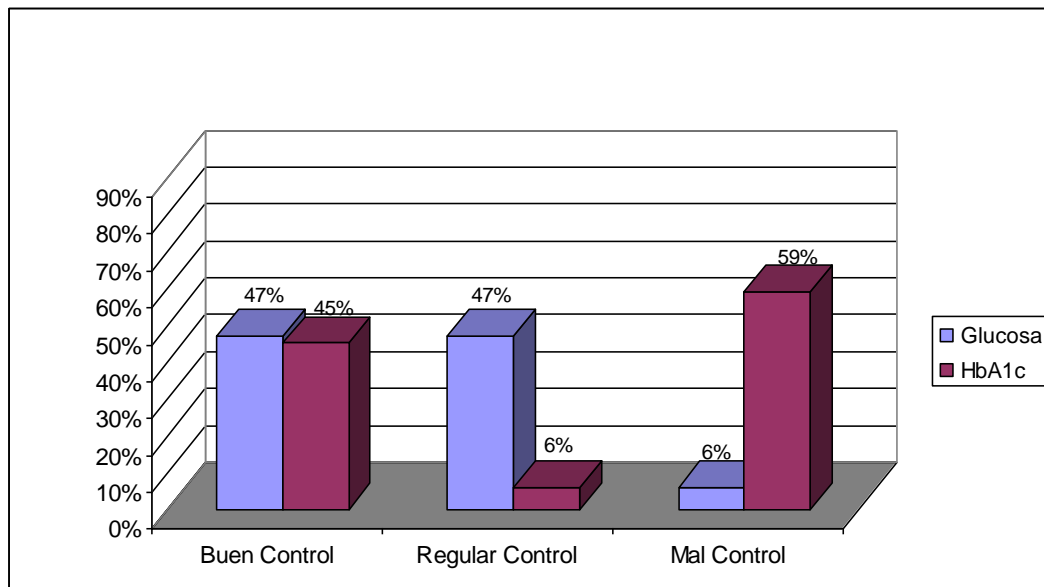


De acuerdo con el nivel de glicemia el 50% están en buen control pero siguiendo el criterio de hemoglobina glicosilada solo el 25% están bien controlados. Es un caso semejante al del grupo 1 pero menos crítico. El 75% se distribuyen en regular y mal control en base al nivel de HbA1c y en base a glicemia solo el 50% están en regular y mal control.

Cuarto Grupo.

Este grupo esta formado por pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus 2, este grupo se formó con personas de H. Caborca y estos acuden a consulta a diferentes instituciones tanto públicas como privadas.

Gráfica 4. Grupo 4 Relación Glicemia-HbA1c.

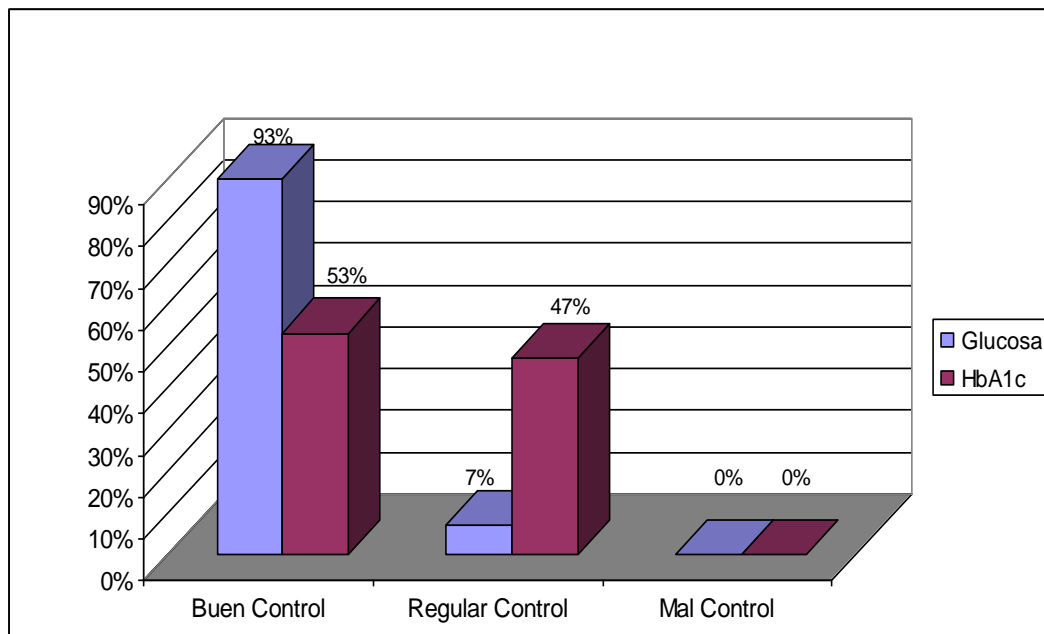


En este grupo se observa una notable similitud en el intervalo de buen control (47% y 45%) de glucosa y hemoglobina glicosilada respectivamente. También hay congruencia en los resultados en los clasificados como regular y mal control 53% por glicemia y 65% por HbA1c.

Quinto Grupo.

Este grupo está formado por personas no diabéticas y sin antecedentes familiares de diabetes.

Gráfica 5. Grupo 5 Relación Glicemia-HbA1c.



Estas personas no están bajo control, pero se les aplica la misma clasificación para uniformizar criterios. La media de glicemia es de 95.86 mg/dL y la media de hemoglobina glicosilada es de 6.46% que cumple con los requisitos establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM). El hecho de que aparezcan ciertos niveles de hemoglobina glicosilada en el rango de regular control no es significativo ya que es un proceso natural y están dentro del intervalo permitido por la NOM.

Correlación Glicemia-Hemoglobina Glicosilada

Se determinó el coeficiente de correlación en cada uno de los grupos relacionando hemoglobina glicosilada contra glucosa sérica. Los resultados son los siguientes:

Tabla 13. Correlación Glucosa-HbA1c

Grupo	Coeficiente de Correlación
Grupo 1	0.2207
Grupo 2	-0.3233
Grupo 3	0.1878
Grupo 4	-0.5419
Grupo 5	-0.3835
Total Pacientes Diabéticos	-0.1100

Se esperaba obtener una correlación cercana a 1.0 pero los resultados demuestran una pobre correlación, posiblemente porque el paciente no está siguiendo las indicaciones del médico, el tratamiento no es el adecuado o el proceso crónico-degenerativo de la enfermedad no permite un buen control.

Se hizo un estudio comparativo entre el grupo de control de no diabéticos con los grupos restantes para ver si hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las glicemias. Se aplicó el análisis de t de Student para comparación de medias. Los resultados se resumen en las tablas 14 y 15:

Tabla 14. Comparación de niveles medios de Glicemia

Grupo	t Calculada	t Tabla	Significativo	
			Si	No
Grupo 1	0.9857	2.0452		x
Grupo 2	4.1431	2.0369	x	
Grupo 3	1.9295	2.0595		x
Grupo 4	1.4732	2.0423		x

Se observa que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las glicemias del grupo control y del resto de los grupos.

Se procedió de la misma forma comparando las medias de las hemoglobinas glicosiladas y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 15. Comparación de niveles medios de HbA1c

Grupo	t Calculada	t Tabla	Significativo	
			Si	No
Grupo 1	3.4961	2.0452	x	
Grupo 2	3.7099	2.0369	x	
Grupo 3	3.0582	2.0595	x	
grupo 4	2.9161	2.0423	x	

Para esta distribución se encuentra que en todos los casos hay diferencia estadísticamente significativa; lo cual nos puede llevar a pensar que muy posiblemente los pacientes de alguna manera manipulan o manejan su nivel de glucosa, pero no pueden hacerlo con su nivel de hemoglobina glicosilada y los resultados lo reflejan.

Simplificando las tablas 14 y 15 en una sola se obtiene una visión mas clara de los resultados como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16. Comparación de medias (t Student) de glicemia y hemoglobina glicosilada.

Grupos	Glicemia		HbA1c	
	Significativo		significativo	
	Si	No	Si	No
Grupo 1		x	x	
Grupo 2	x		x	
Grupo 3		x	x	
Grupo 4		x	x	

CONCLUSIONES

El estudio demostró que es necesario realizar la hemoglobina glicosilada para valorar la calidad del control, sobre todo porque en la comparación de medias de glicemia entre el grupo control y los cuatro grupos de estudio, tres de estos grupos de diabéticos no presentaron diferencia estadísticamente significativa con el control. Mientras que en la comparación de medias de hemoglobina glicosilada todos mostraron diferencia significativa.

Basarse en la determinación de glucosa sérica en los pacientes diabéticos, cada vez que acuden a consulta con el fin de monitorear su control glicémico, no es confiable, como lo demuestran los datos del estudio.

Este examen puede estar influido negativamente por una serie de factores que tienen que ver con la adherencia del paciente y la calidad de su control. La determinación de la hemoglobina glicosilada es, por lo tanto, mandatorio e imprescindible.

A pesar del beneficio de la hemoglobina glicosilada se desconoce el porcentaje de pacientes diabéticos que están siendo controlados con ésta, pero definitivamente en atención primaria, que es en donde se manejan la mayoría de ellos, no es utilizada, ya sea porque la prueba no es asequible al primer nivel de atención o porque los médicos no la utilizan pese a que exista.

APÉNDICE

Apéndice 1. Espectrofotómetro (Users Manual 2100 Series Spectrophotometer)⁶⁸

El espectrofotómetro de la marca UNICO serie 2100 UV posee un rango de longitud de onda de 200-1000 nm. La técnica de operación de este espectrofotómetro se describe a continuación:

Encendido:

1. Oprimir el encendido del espectrofotómetro y esperar 15 minutos para el correcto restablecimiento de las funciones del aparato.
2. Accionar la tecla Mode para iniciar primeramente en modo de transmitancia o presionar una vez más para cambiar a modo de absorbancia, esto, señalado por una luz roja en el panel de operación.
3. Seleccionar el rango de longitud de onda presionando los botones de control de rango de longitud (Wavelength). En la pantalla del espectrofotómetro aparecerá la palabra “BLA” que nos servirá de recordatorio en caso de ser necesario un cambio en la longitud de onda para esto oprimir el botón 0 A/100%T.

Lectura de la Muestra

1. Hacer un blanco de referencia en una cubeta limpia llenándola con agua destilada o no ionizada. Secar con una hoja de papel suave para quitar manchas digitales y escurrimientos del líquido.

2. Insertar la cubeta con el blanco dentro de la primera celda. Presionar la cubeta hasta que quede completamente insertada en el porta celdas y cerrar el compartimiento.

3. En la pantalla aparecerá la cifra 0.000.

4. Remover la cubeta con el blanco; en casos de realizar ajustes presionar el botón de 0A/100%T.

5. Insertar una cubeta con la muestra a analizar. Esta debe de estar llena y no presentar manchas o gotas de la sustancia que interfieran con la lectura.

6. Presionar la cubeta y cerrar el compartimiento.

7. Leer transmitancia o absorbancia, según sea el caso. Si se desea leer más de una cubeta mover la porta celda a la siguiente posición.

8. Anotar la lectura.

9. Remover las cubetas con cuidado.

Apéndice 2. Técnica para Determinación de Glucosa/ Oxidasa

Reactivos para diagnóstico:

A. Reactivo: Fosfatos 70 mmol/L, fenol 5 mmol/L, glucosa oxidasa >10 U/ml, peroxidasa > 1 U/ml, 4-aminoantipirina 0,4 mmol/L, pH 7,5

S. Patrón de Glucosa/Urea/Creatinina. Glucosa 100 mg/dL (5,55 mmol/L), urea 50 mg/dL, creatinina 2 mg/dL. Patrón primario acuoso.

Procedimiento:

1. Poner el reactivo a temperatura ambiente.
2. Pipetear en tubos de ensayo.

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón S	-	10 µL	-
Muestra	-	-	10 µL
Reactivo (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 5 minutos a 37°C.

4. Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 500 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 2 horas.

Cálculos:

La concentración de glucosa en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$A_{\text{muestra}} / A_{\text{Patrón}} \times C_{\text{Patrón}} = C_{\text{Muestra}}$$

Donde $C_{\text{patrón}}$ =

X 100 = mg/dL de glucosa ó

X 5,55 = mmol/L glucosa

Apéndice 3. Técnica para Determinación de Hemoglobina glicosilada

Reactivos para diagnóstico:

- A. Reactivo de resina; 8 mg/mL resina de intercambio catiónico buferinizado a un pH 6.9.
- B. Reactivo lisante: 10 mm de cianuro de potasio, surfactante añadido.
- C. Estándar de hemoglobina glicosilada: 10% hemoglobina glicosilada.
- D. Separadores de suero.
- E. Agua deionizada.

Procedimiento:

A. Preparación del hemolisado

1. Coloque 0.5 mL del reactivo lisador en los tubos etiquetados como: calibrador, control, muestra 1, etc.
2. Coloque 0.1 mL de la muestra de sangre dentro de los tubos previamente etiquetados. Mezcle hasta que la lisis sea completa.
3. Dejar reposar 3 minutos.

B. Preparación de la hemoglobina glicosilada

1. Coloque 3 mL de la resina de intercambio catiónico para hemoglobina glicosilada dentro de tubos 13 x 100 etiquetados adecuadamente.

Nota: antes de usarse, mezcle bien la resina por inversión por lo menos 6 veces. Agite el frasco que contiene la resina entre cada toma de reactivo.

2. Coloque 0.1 mL del hemolisado del paso A.
3. Coloque el filtro separador dentro del tubo aproximadamente 2 cm sobre el nivel del líquido.
4. Coloque los tubos en un mezclador automático por 5 minutos.
5. Retire los tubos del mezclador.
6. Presione el filtro separador dentro del tubo hasta que la resina este compacta.
7. El líquido sobrenadante puede ser vaciado a otro tubo o directo a la cubeta para medir la absorbancia.
8. Ajuste el instrumento a cero de absorbancia a 415 nm usando agua deionizada como blanco.
9. Lea y registre los valores de la absorbancia para el calibrador, control, muestra 1, etc. Estas lecturas son para calcular la hemoglobina glicosilada.

C. Fracción de la hemoglobina total:

1. Coloque 5 mL de agua no ionizada en los tubos previamente etiquetados.
2. Coloque 0.02 mL del hemolisado preparado en el paso A dentro de los tubos etiquetados. Mezcle.
3. Ajuste el instrumento a cero de absorbancia a 415 nm usando agua deionizada como blanco.

4. Lea y registre la absorbancia para el calibrador, control, muestra 1, etc. Estas lecturas son utilizadas en cálculo de la hemoglobina total.

Cálculos:

Los resultados de los problemas deberán ser calculados de la siguiente manera: para cada muestra, calcule el cociente entre la absorbancia de la hemoglobina glicosilada y la absorbancia de la hemoglobina total. Usando la siguiente ecuación determine la concentración de los problemas.

$$\frac{\text{Absorbancia calibrador HbA}_{1c}}{\text{Absorbancia calibrador Hb total}} = C \text{ (Cociente del Calibrador)}$$

$$\frac{\text{Absorbancia problema HbA}_{1c}}{\text{Absorbancia problema Hb total}} = C \text{ (Cociente del Problema)}$$

$$\frac{C \text{ (Cociente del Problema)}}{C \text{ (Cociente del calibrador)}} \times \text{Valor del Calibrador (\%)} =$$

= % de hemoglobina glicosilada del problema

Apéndice 4. Encuesta realizada a pacientes diabéticos.

1. ¿Cuál es su nombre?
2. ¿Cuál es su edad?
3. ¿Qué tipo de diabetes padece usted?
4. ¿Desde cuándo la padece?
5. ¿Asiste a algún programa o pláticas para diabéticos?
6. ¿Está usted en tratamiento?
7. ¿Qué tipo de tratamiento?
8. ¿Con que frecuencia toma su medicamento?
9. ¿Hace usted ejercicio?
10. ¿Tiene usted complicaciones u otro tipo de padecimiento? ¿Cuál?
11. ¿Con que frecuencia la (lo) atiende su doctor?
12. ¿Cada que tanto le realizan exámenes de laboratorio?
13. ¿Le han realizado alguna vez el examen de hemoglobina glicosilada?

BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de la Salud. Guía clínica. –diabetes Mellitus Tipo 2. 1st Ed. Santiago: Minsal, 2005.
2. Aguilar-Salinas C, Reyes-Rodríguez E, Ordóñez-Sánchez M. L. *et al.* Early-onset type 2 diabetes: Metabolic and genetic characterization in the Mexican population. *J Clin Endo Metab* 2001 en prensa.
3. Estrategia de Cooperación con México de la OPS/OMS para el periodo 2005-2009.
4. SSA. Programa de Acción de Diabetes Mellitus. México, D.F. 2002.
5. Sanchez-Castillo C, Berber A, Velázquez-Monroy O, Lara-Esqueda A, Tapia Conyer R & James P. Anthropometric Cutoff points for predicting chronic diseases in the Mexican National Health Survey. 2000; 11 (3): 442-451.
6. Strowig S, Raskin P. Glycemic control and diabetes complications. *Diabetes Care* 1992; 15: 1126-40.
7. Colwell JA. Intensive insulin therapy in type II diabetes: rationale and collaborative clinical trial results. *Diabetes* 1996; 45 (Suppl 3): 87-90.
8. Davis TM, Millins H, Stratton IM, Holman RR, Turner RC. –Risk factors for stroke in type 2 diabetes mellitus. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) 29. *Arch Inter Med* 1999; 159 (10): 1097-1103.

9. Edelman SV. Importance of glucose control. *Med Clin North Am* 1998; 82 (4): 665-687.
10. Benjamín RJ, Sacks DB. Glicated protein update: implications of recent studies, including the diabetes control and complications trial. *Clin Chem* 1994; 40 (5): 683-687.
11. UKPDS Group United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) XI: Biochemical risk factor in type 2 diabetic patients at diagnosis compared with age-matched normal subjects. *Diab Med* 1994; 11 (6): 534-544.
12. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes*; 2004. p. S15-S35.
13. Slama G, Selam JL. Prevention of late complications of insulin dependent diabetes. How far an at what price? *Ann Endocrinol* 1995; 56 (1): 31-35.
14. Mathew C. Riddle, MD y Dianne M. Karl, Hb A_{1c}: La mejor forma de medir la calidad del tratamiento. *Clinical Diabetes* 1996; 79-82.
15. Contreras J, B Mata-Cardenas, A Ávila, G González-Quiroga y G Forsbach-Sánchez 1986. Hemoglobina glucosilada y curva de tolerancia a la glucosa en madres de recién nacidos macrosómicos. *Rev. Med IMSS (Mex)* 24: 397-400.
16. Sistema Nacional de Salud. Boletín de información Estadística. Daños a la Salud. No. 25, Vol. II. 2005.
17. Robert H. Williams, M.D. Tratado de Endocrinología. Páncreas Endocrino y Diabetes Mellitus. 6ta. Edición. Interamericana. 1984. Pp. 819-900.

18. Lawrence M. Tierney, Jr. Stephen J. McPhee. Maxine A. Papadakis. Diagnóstico Clínico y Tratamiento. Diabetes Mellitus e Hipoglucemia. 41^a. Edición. Manual Moderno. 2006. Pág. 1041-1066.
19. Juan Manuel Malacara, El Enigma de las Causas de Diabetes Mellitus Tipo 2. Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato. No.1. Enero-abril vol. 13. 2003.
20. X. Fuentes. M. J. Castiñeiras, J. M. Queraltó. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Capitulo 47. Glúcidos. 2^{da}. Edición. E. Reverté, S. A. 1998. Pág. 661-662.
21. Gilberto M, Mauricio R; Interpretación Clínica del Laboratorio. Diabetes insípida. 7^a. Edición, Panamericana. 2006 Pág. 197-200.
22. García Francisco, Novo Jesús, *et al.* Diabetes Mellitus Tipo 2. Guías Clínicas 2005; 5 (15).
23. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 20: 1183-1197, 1997.
24. Screening for Type 2 Diabetes. Diabetes Care 2004; 27: S11-S14, 2004.
25. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2004; 27: S5-S10.
26. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes.

27. Oviedo Mario, *et al.* Guía clínica para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Revista Médica del IMMS. Vol. 41 No. 1. 2003.

28. Reyna Fimbres Rosario. Prevalencia de pacientes diabéticos en el Hospital General de Zona No. 8 del Instituto Mexicano del Seguro Social en H. Caborca, Sonora. Universidad de Sonora. Febrero, 2002.

29. The Diabetes Control and Complications Trial Reserch Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications insulin-dependent diabetes mellitus. N. Engl J Med 329:977-986, 1993.

30. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 352: 837-851, 1998.

31. Proceso Asistencial Integrado. Diabetes Mellitus Tipo 2. Consejería de la Salud. Sevilla, ISBN 84-8486-044-2. Pág. 1-233. 2002.

32. Hernández Mira G, Macarro Merino A, Fernández Perines J, Fernández Vigo J. Prevalencia de retinopatía diabética en Extremadura. Av Diabetol 1996; 12:164-171.

33. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davids MD, DeMeets DL. The Wisconsin Epidemiological Study of Diabetic Retinopathy III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 years or more. Arch Ophthalmol 1984; 102: 520.

34. Aiello LP, Gardner T, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy (technical review). *Diabetes Care* 1998; 21: 143-156.
35. Vinik AI, Holland MT, Le Beau JM, Liuzzi FJ, Stansberry KB, Colen LB, and the Diabetic Neuropathy Study Group. Diabetic neuropathies. *Diabetes Care* 1992; 15: 1926-1975.
36. Young MJ, Boulton AJ, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetología* 1993; 36: 150-154.
37. American Diabetes Association. Consensus statement: diabetic foot wound care. *Diabetes Care* 1999; 22: 1354-1360.
38. Ramsey SD, Sandhu N, Newton K, Reiber GE, Blough D, Wagner EH, McCulloch DK. Incidence, outcomes and cost of foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 382-387.
39. Gimbert RM, Méndez A, Lissa J, Tomás P, Cano JF, Roura P, and the GEDAPS Group. Diabetic foot in primary health care. *Diabetología* 1997; 40 (Supl 1): 467.
40. Cryer PE, Fisher JN, Shamoon H. Hypoglycemia (technical review). *Diabetes Care* 1994; 17: 734-755.
41. Grimaldi A, Slama G, Tubiana-Rufi N, Heurtier A, Selam JL, Scheen A. *et al.* Hypoglycemia in the diabetic patient. Recommendations of ALFEDIAM. *Diabetes Metab* 1997; 23: 100-108.
42. Pineda Gasca, Hernández Isabel, *et al.* El cuidado de la persona con diabetes tipo 2. Vol. 2 No. 1. Enero-Febrero 2003.

43. Gaede P, Vedel P, Larse N, Jensen GV, Parkin HH, Pedersen O. Multifactorial Intervention and Cardiovascular Disease in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2003; 348: 383-393.

44. Franch J, Goday A, Mata M *et al*. COMBO Actualización 2004. Criterios y pautas de terapia combinada en la diabetes tipo 2. *Avances en Diabetología*. 2004; 20: 77-112.

45. Recomendaciones y nivel evidencia: National Clinical Guidelines for Type 2 Diabetes. Pharmacological interventions for the management of blood glucose in Type 2 diabetes.

46. De Fronzo RA. Pharmacological therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1999; 131: 281-303.

47. Lebovitz HE. Insulin secretagogues: old and new. *Diabetes Rev* 1999; 7: 139-153.

48. Owens DR. Repaglinide-Prandial glucose regulator: a new class of oral antidiabetic drugs. *Diabetic Med* 1998; 15 (Supl 4): 28-36.

49. European Diabetes Policy Group 1999. A desktop guide for the management of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Med* 1999; 16: 716-730.

50. Grupo de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria de la Salud (GEDAPS). Guía de tratamiento de la Diabetes tipo 2 en atención primaria Madrid: Ediciones Harcourt S. A: 1999.

51. American Diabetes Association. Consensus statement: the pharmacological treatment of hiperglicemia in NIDDM *Diabetes Care* 1995; 18: 1510-1518.

52. Bailey CJ. Metformin. *N Engl J Med* 1996; 334: 574-578.

53. Johansen K. Efficacy of metformin in the treatment of NIDDM. Meta-analysis. *Diabetes Care* 1999; 22: 33-37.

54. Chiasson JL, Joss RG, Hunt JA, *et al.* The efficacy of acarbose in the treatment of patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. A multicenter controlled trial. *Ann Intern Med* 1994; 121: 928-935.

55. Holman RR, Cull CA, on behalf of the UKPDS Study Group. A randomized double-blind trial of Acarbose in type 2 diabetes shows improved glycemic control over 3 years (UK Prospective Diabetes Study 44). *Diabetes Care* 1999; 22: 960-964.

56. Amadeo J, Peseo, Lawrence A Kaplan. Química Clínica Métodos. Diabetes Enfoques de Laboratorio. Editorial Médica Panamericana. 1990. Pp. 111-135.

57. Shirlyn B. McKenzie. Hematología Clínica. El Eritrocito. Manual Moderno. 2ª. edición. 2000. Pp. 50-52.

58. Bohinski, Robert C. Bioquímica. Carbohidratos. Editorial Pearson Educación. 5ª edición. 1991. Pp. 406-411.

59. Francis S, Greenspan, Gordon J. Strewler. Endocrinología Básica y Clínica. Hormonas Pancreáticas y Diabetes Sacarina. Editorial Manual Moderno. 4ª edición 1998. Pp. 700-702.

60. Koenig J, Blobstein H, Cerami A. Structure of Carbohydrate of Hemoglobin A_{1c}. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 252, No. 9, 1977. 2992-2996.

61. Adezaragoza. Hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}).
www.adezaragoza.org/diabetes/index. Mayo 2007.

62. Beck S. William. Hematology. Hemoglobin I Structure and Function. The MIT Press. Fifth edition. 1991. Pág. 174-176.
63. Grande Aragón Cristina. Glicación no Enzimática de Proteínas: Importancia en el Diagnóstico y Control de la Gestante Diabética. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. 1992. Pp. 1-207.
64. Peacock Ian. Glycosylated hemoglobin: measurement and clinical use. J Clin Phatol 1984; 37: 841-851.
65. Anderson-Cockayne. Química Clínica. Carbohidratos. Editorial Interamericana McGraw-Hill. 1995. Pp. 157-163.
66. John Bernard Henry, Todd-Sanford-Davidson. Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio. Carbohidratos. Editorial Salvat. Tomo I. 8ª edición. 1992. Pp. 207-220.
67. American Diabetes Association. Standars of Medical Care for Patients with Diabetes Mellitus. Clinical Practice Recommendations. Diabetes Care 2000; 23 (Supl 1): 32-42.
68. Users Manual 2100 Series Spectrophotometer. Unico(Shangai) Instruments Co. Ltd. No. 192 Tianlin Road Shangai, China 200233. Tel. 86-21-64955137. Fax: 86-21-64957553.
69. Jurisdicción Sanitaria II. H. Caborca, Sonora, 2007.

